



*Universidad*  
**LATINA** *de Panamá*  
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA

**Facultad de Ingeniería**

**Carrera en ingeniería biomédica e instrumentación**

***“Evaluación del proceso de cicatrización de lesiones cutáneas utilizando  
análisis semiautomatizado de imágenes”***

**Proyecto final de graduación presentado como requisito para optar por el título  
de Ingeniería Biomédica e instrumentación en la universidad Latina de  
Panamá**

**Ana Gabriela Pérez Rodríguez**

**C.I.P.: 8-975- 2047**

**Director:**

**Dr. Diego Reginensi**

**Tutor:**

**Mgtr Alfredo Lescher**

**Panamá, República de Panamá**

**2025**

## DEDICATORIA

A mis queridos padres,

Quienes han sido mi pilar y mi guía a lo largo de esta travesía. Su amor incondicional, su apoyo constante y su fe inquebrantable en mí han sido las fuerzas motrices detrás de cada uno de mis logros. Les agradezco por enseñarme el valor del esfuerzo, la importancia de la perseverancia y el poder del conocimiento. Ustedes me han mostrado que los sueños se pueden alcanzar con dedicación y trabajo duro. Sin su ejemplo y sus sacrificios, este momento no sería posible.

A mi madre, por su ternura, paciencia y sabiduría, y a mi padre, por su fortaleza, consejo y aliento. Ustedes han sido mi inspiración y mi refugio. Gracias por estar siempre ahí, en los momentos de alegría y en los momentos de desafío, celebrando mis éxitos y brindándome ánimo en los fracasos. Este logro es tan suyo como mío.

Y a mí misma, por no rendirme nunca, por enfrentar cada obstáculo con determinación y por dedicarme con pasión y compromiso a mis estudios. Este es el resultado de muchas noches de esfuerzo, de innumerables horas de dedicación y de un profundo deseo de superación personal. Me reconozco el valor de creer en mis capacidades y de luchar por mis sueños.

Con profunda gratitud y amor, dedico esta tesis a quienes han sido mis mayores apoyos y a mí misma, por la tenacidad y el esfuerzo que han hecho posible este logro.

Con cariño y gratitud,

Ana Gabriela Pérez Rodríguez

## AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas y entidades que han sido fundamentales en la culminación de esta tesis.

En primer lugar, a mis queridos padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y su infinita paciencia. Gracias por ser mi guía, por creer en mí y por brindarme las herramientas necesarias para alcanzar mis metas. Este logro es tanto de ustedes como mío.

A mis hermanos, por ser un pilar fundamental en mi vida. Su apoyo incondicional y su capacidad para motivarme en los momentos más difíciles han sido invaluable. Gracias por brindarme siempre una palabra de aliento, por compartir su sabiduría y por estar a mi lado en cada paso de este recorrido académico. Su amor y complicidad han sido una fuente constante de fuerza e inspiración.

A mis profesores, quienes han compartido su conocimiento, sabiduría y experiencia a lo largo de mi formación académica. A cada uno de ustedes, gracias por su dedicación, por inspirarme y por retarme a ser mejor cada día.

A mi tutor asesor, Dr. Diego Reginensi, por su guía experta, su paciencia y sus valiosos comentarios. Gracias por su apoyo incondicional, por su disponibilidad y por ayudarme a pulir cada detalle de esta tesis. Su orientación ha sido esencial para la realización de este trabajo. Al Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología de Panamá AIP (INDICASAT-AIP), por brindarme el espacio y los recursos necesarios para poder realizar mi tesis. Al Dr. Luis Luis y a la Mgtr. Solangel Castillo, por sus valiosos aportes en la realización de este trabajo de grado. Sus consejos y orientación han sido de gran ayuda para el desarrollo de esta investigación.

A mis amigos, por su constante ánimo, por los momentos de esparcimiento que tanto ayudan, y por su apoyo emocional. Gracias por ser mi red de apoyo, por escucharme y por celebrar cada uno de mis logros.

Y a mis compañeros, por su colaboración, por los conocimientos aportados y por compartir este viaje académico conmigo. Gracias por su apoyo.

A la Universidad Latina de Panamá, por brindarme la oportunidad de formarme en un ambiente académico de excelencia. Gracias por los recursos, las instalaciones y el personal académico que han hecho posible mi desarrollo profesional.

A todos ustedes, les extiendo mi más profundo agradecimiento. Esta tesis no habría sido posible sin el apoyo, la guía y el aliento de cada uno de ustedes.

Con cariño y gratitud,

Ana Gabriela Pérez Rodríguez

## Declaración jurada



UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ

### DECLARACIÓN JURADA

Yo, **Ana Gabriela Pérez**, con cédula de identidad personal número, **8-975-2047** estudiante graduando del programa/carrera de **Licenciatura en Ingeniería Biomédica e instrumentación** declaro bajo la gravedad del juramento que el material que aparece en este trabajo de graduación, en la opción: Proyecto de grado (Tesis), es de mi producción intelectual, en razón de lo cual exoneró a la Universidad Latina de Panamá de cualquier responsabilidad relacionada con este aspecto.

Como constancia, firmo la presente declaración el día 31 del mes de noviembre del año 2025.

A handwritten signature in black ink that reads 'Ana G. Pérez R.' with a stylized flourish at the end.

**Ana Gabriela Pérez Rodríguez**

**8-975-2047**

## RESUMEN

La presente tesis, titulada “*Evaluación del proceso de cicatrización de lesiones cutáneas utilizando análisis semiautomatizado de imágenes*”, tiene como finalidad implementar y validar herramientas digitales que permitan un análisis objetivo y reproducible del proceso de cicatrización cutánea.

El trabajo se ha estructurado en dos objetivos principales:

- I. Estudiar un método de análisis de imágenes utilizando herramientas computacionales y datos experimentales de cicatrización *in vitro*.
- II. Estudiar el proceso de cicatrización en modelos murinos , mediante la aplicación *IMITO Wound* con imágenes obtenidas de la literatura científica.

Los resultados obtenidos confirman que el uso de herramientas computacionales y aplicaciones móviles constituye una estrategia eficiente, estandarizada y replicable para el análisis de heridas cutáneas, tanto en entornos de investigación como en la práctica clínica. Este enfoque no solo optimiza la recopilación y procesamiento de datos experimentales, sino que también abre la posibilidad de incorporar estas metodologías al seguimiento remoto de pacientes con heridas crónicas.

## Tabla de contenido

|   |            |
|---|------------|
| <b>DEDICATORIA</b> .....  | <b>ii</b>  |
| <b>AGRADECIMIENTO</b> .....                                     | <b>iii</b> |
| <b>RESUMEN</b> .....  | <b>vi</b>  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....                                       | <b>1</b>   |
| <b>CAPÍTULO 1: EL PROBLEMA</b> .....                            | <b>3</b>   |
| 1.1. Antecedentes del problema de investigación .....           | 4          |
| 1.2 Planteamiento del problema .....                            | 5          |
| 1.3 Justificación de la investigación .....                     | 6          |
| 1.4 Objetivos.....  | 7          |
| Objetivo General .....  | 7          |
| Objetivos Específicos .....                                     | 7          |
| 1.5 Alcance y límites de la investigación .....                 | 7          |
| 1.6 Línea de investigación a la que pertenece el estudio .....  | 8          |
| <b>CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO</b> .....                          | <b>9</b>   |
| 2.1 Antecedentes de investigaciones realizadas en el tema ..... | 10         |
| 2.2 Bases teóricas que sustentan la investigación .....         | 12         |
| 2.2.1 Capas de la piel.....                                     | 12         |
| 2.2.2 Lesiones y daños cutáneos.....                            | 19         |
| 2.2.3 Proceso de curación de heridas.....                       | 21         |
| 2.2.4 Apósitos en el proceso de curación .....                  | 24         |
| 2.2.5 Uso de software en la investigación de heridas: .....     | 25         |

|  |  |           |
|--|--|-----------|
| 2.3  | Glosario de termino.....   | 31        |
| <b>CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO .....</b>              |  | <b>33</b> |
| 3.1  | Tipo y diseño de la investigación. ....  | 34        |
| 3.2  | Población y muestra.....   | 35        |
| 3.2.1  | Cálculo del muestreo. ....   | 36        |
| 3.2.2  | Criterio de inclusión y exclusión.....   | 36        |
| 3.3  | Descripción de materiales, equipos y software. ....  | 38        |
| 3.4  | Procedimiento de la Investigación .....  | 41        |
| <b>CAPÍTULO 4: .....</b>                                 |  | <b>47</b> |
| <b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS .....</b> |  | <b>47</b> |
| 4.1  | Análisis de resultado.....   | 48        |
| 4.1.1  | método de análisis obtenidos de la literatura. ....  | 48        |
| 4.1.2  | Estudio por imágenes de un modelo experimental in vitro de cicatrización. ....   | 62        |
| 4.1.3  | Estudio una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura..... | 66        |
| 4.2  | Discusión de los resultados. ....  | 73        |
| <b>CONCLUSIONES .....</b>                                |  | <b>79</b> |
| <b>RECOMENDACIONES .....</b>                             |  | <b>80</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>                                |  | <b>81</b> |
| <b>Anexo.....</b>  |  | <b>88</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1: Capas de la piel Fuente: Amaya Zambrano, 2022.....   | 14 |
| Figura 2: Etapas del proceso fisiológico de cicatrización cutánea. Fuente: Elaboración propia.<br>.....  | 23 |
| Figura 3: Esquema metodológico para la cuantificación digital de imágenes mediante el software ImageJ. Fuente: Elaboración propia. ....  | 42 |
| Figura 4: Protocolo general de cultivo de células madre mesenquimales. Fuente: Elaboración propia.....   | 43 |
| Figura 5: Diagrama del procedimiento experimental en placa Ibidi para el estudio del cierre celular posterior a una lesión. Fuente: Elaboración propia. ....   | 44 |
| Figura 6: Diagrama de flujo del análisis semiautomatizado de imágenes de modelos murinos para evaluar aplicaciones digitales en el monitoreo del proceso de cicatrización. Fuente: Elaboración propia. ....  | 45 |
| Figura 7: Imagen de microscopía extraída del artículo de Jonkman et al. (2014) utilizado para validar el análisis digital del proceso de cicatrización celular in vitro mediante ImageJ. Fuente: Jonkman et al., 2014.....   | 49 |
| Figura 8: Ventana de configuración del complemento de análisis en ImageJ, donde se ajustan los parámetros de segmentación del área lesionada. Fuente: Elaboración propia. ....   | 49 |
| Figura 9: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.....   | 50 |
| Figura 10: Imagen de microscopía en escala de grises con delimitación automática del área libre (líneas azules y amarillas), que representa el espacio sin células entre los frentes migratorios. Adaptado de Jonkman et al., 2014. Procesamiento digital: elaboración propia. | 51 |
| Figura 11: Imagen original del ensayo *wound Healing* extraída de Costantini et al. (2022), empleada para análisis digital con ImageJ. Fuente: Costantini et al., 2022. ....   | 52 |
| Figura 12: Tabla de resultados obtenidos en ImageJ luego de procesar la imagen de protocolo de sham, Fuente: Elaboración propia.....   | 53 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 13: Imagen procesada con delimitación automática del área de la herida del protocolo de sham. Adaptado de Costantini et al., 2022. Procesamiento digital: elaboración propia...                                       | 53 |
| Figura 14: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.....  | 54 |
| Figura 15: Imagen procesada con delimitación automática del área de la herida del protocolo B. Adaptado de Costantini et al., 2022. Procesamiento digital: elaboración propia.....   | 54 |
| Figura 16: Imagen original extraída de Liu et al. (2024), correspondiente a un modelo in vitro de migración celular inducida con hispidina. Fuente: Liu et al., 2024. ....   | 56 |
| Figura 17: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.....  | 57 |
| Figura 18: Imagen procesada con delimitación automática del área libre con control. Adaptado de Liu et al., 2024. Procesamiento digital: elaboración propia.....   | 57 |
| Figura 19: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.....  | 57 |
| Figura 20: Imagen procesada con delimitación automática del área libre postratamiento con hispidina en concentración de 40 $\mu\text{mol/L}$ . Adaptado de Liu et al., 2024. Procesamiento digital: elaboración propia. .... | 58 |
| Figura 21: Imagen de microscopía obtenida del artículo de Szwedowicz et al. (2021), correspondiente a un ensayo de cicatrización con ácido salvianólico B. Fuente: Szwedowicz et al., 2021. ....                             | 59 |
| Figura 22: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.....  | 60 |
| Figura 23: Imagen procesada con delimitación automática del área libre de las muestras de control. Adaptado de Szwedowicz et al., 2021. Procesamiento digital: elaboración propia..  | 60 |
| Figura 24: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.....  | 61 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 25: Imagen procesada con delimitación automática del área libre de las muestras de ácido salvianólico B. Adaptado de Szwedowicz et al., 2021. Procesamiento digital: elaboración propia. ....                                  | 61 |
| Figura 26: Imagen procesada con delimitación automática del área libre con la utilización de plataforma de silicón IBIDI. Fuente: Elaboración propia. ....  | 63 |
| Figura 27: Imagen de referencia científica tomada del artículo de Wang et al. (2018). Fuente: Wang et al., 2018. ....   | 67 |
| Figura 28: Imagen representativa de herida murina del artículo de Wang et al. (2018), procesada mediante IMITO Wound para delimitar el área lesionada. Adaptado de Wang et al., 2018. Procesamiento digital: elaboración propia. .... | 68 |
| Figura 29: Imagen de referencia científica tomada del artículo de Kubinova et al.2017. ....   | 69 |
| Figura 30: Proceso de delimitación digital de heridas tratadas con plasma frío utilizando Imito wound. Procesamiento digital: elaboración propia. ....  | 70 |
| Figura 31: Imagen de referencia científica tomada del artículo de Hmood et al. (2022). Fuente: Hmood et al., 2022. ....   | 71 |
| Figura 32: Imagen de herida murina tratada con polisacárido de Glycyrrhiza glabra, delimitada mediante IMITO Wound. Fuente: Hmood et al., 2022. ....  | 72 |

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

|  |    |
|--|----|
| Grafica 1: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo. Fuente: Elaboración propia. .  | 51 |
| Grafica 2: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo de los protocolos analizados del artículo de constantin Fuente: Elaboración propia.....               | 55 |
| Grafica 3: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo de los protocolos analizados del artículo de Lui et al., 2024. Fuente: Elaboración propia.....        | 58 |
| Grafica 4: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo de los protocolos analizados del artículo de Szwedowicz et al., 2021 Fuente: Elaboración propia. .... | 62 |
| Grafica 5: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo. Fuente: Elaboración propia. .  | 66 |
| Grafica 6: Cierre progresivo de la herida en ratones Fuente: Elaboración propia. ....  | 69 |
| Grafica 7: Cierre progresivo de la herida en ratones Fuente: Elaboración propia. ....  | 71 |
| Grafica 8: Cierre progresivo de la herida en ratones Fuente: Elaboración propia. ....  | 73 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1: Valores obtenidos de la cuantificación con ImageJ. .... | 64 |
|--|----|

## INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más extenso del cuerpo humano y cumple funciones esenciales como la protección frente a agresiones externas, la regulación térmica y la percepción sensorial. Su integridad estructural es vital para mantener la homeostasis; sin embargo, al producirse una lesión cutánea, se desencadena un proceso complejo de reparación conocido como *cicatrización tisular*. Este proceso involucra una serie de eventos celulares y moleculares organizados en tres fases principales: inflamatoria, proliferativa y de remodelación.

El estudio de la cicatrización es fundamental en el ámbito biomédico, ya que las alteraciones en este proceso pueden generar complicaciones como infecciones, formación de cicatrices hipertróficas o heridas crónicas. A nivel experimental, los *modelos in vitro e in vivo* han permitido comprender los mecanismos de reparación tisular y evaluar la efectividad de nuevas terapias regenerativas. Sin embargo, la cuantificación del cierre de herida sigue siendo un desafío, debido a la variabilidad de las mediciones manuales y la falta de estandarización en los métodos de registro y análisis de imágenes.

En la actualidad, las herramientas computacionales se han consolidado como una alternativa eficiente para analizar digitalmente el proceso de cicatrización. Programas de código abierto como *ImageJ/Fiji* permiten realizar mediciones objetivas del área de herida, mientras que plataformas estadísticas como *GraphPad Prism* facilitan la representación gráfica y el análisis comparativo de los resultados. Asimismo, el desarrollo de aplicaciones móviles, como *IMITO Wound*, ha impulsado el uso de tecnologías digitales en el ámbito clínico, permitiendo el registro y monitoreo fotográfico de heridas de forma semiautomatizada.

En Panamá, la implementación de estas herramientas tecnológicas aún es limitada. La mayoría de los centros de salud carece de protocolos de registro fotográfico estandarizado, lo que dificulta el seguimiento objetivo de las lesiones cutáneas y la comparación de resultados terapéuticos entre pacientes. Esta limitación resalta la necesidad de integrar metodologías digitales accesibles que contribuyan a mejorar la documentación clínica y la investigación en procesos de cicatrización.

Frente a esta realidad, la presente investigación se orienta a evaluar el proceso de cicatrización de lesiones cutáneas mediante análisis semiautomatizado de imágenes, utilizando herramientas computacionales aplicadas tanto a datos experimentales obtenidos de la literatura como a un modelo in vitro desarrollado con células madre mesenquimales. De esta manera, se busca establecer un método de análisis reproducible que permita cuantificar de forma objetiva el cierre de heridas, aportando una base metodológica sólida para futuras aplicaciones en investigación y práctica clínica.

## **CAPÍTULO 1: EL PROBLEMA**

### **1.1. Antecedentes del problema de investigación**

La regeneración cutánea es un proceso complejo que involucra una secuencia de eventos celulares y moleculares destinadas a restablecer la integridad de la piel después de una lesión. En las últimas décadas, la medicina regenerativa ha centrado sus esfuerzos en estrategias que busquen acelerar este proceso tisular, especialmente, debido al incremento sostenido de heridas crónicas, quemaduras y úlceras asociadas a enfermedades como la diabetes mellitus y las afecciones vasculares, a nivel mundial (Gurtner et al., 2008). Actualmente, diversos estudios han demostrado el potencial de las células madre y biomateriales, como elementos clave en la reparación tisular en el ámbito de la medicina regenerativa. Estas terapias prometedoras son capaces de promover la migración celular, la modulación de la inflamación y la síntesis de matriz extracelular, tanto en modelos *in vitro* como en modelos animales (*in vivo*) (Hu et al., 2018). Además, de manera complementaria, la incorporación de herramientas computacionales para el análisis de imágenes ha permitido cuantificar el proceso de cicatrización de manera objetiva, estandarizada y reproducible, aportando un valor significativo en la investigación preclínica y en el seguimiento clínico (Braun et al., 2021).

No obstante, en Panamá y América Latina persiste un vacío científico en esta área del conocimiento, ya que la mayoría de los estudios locales carecen de protocolos experimentales integrados que combinan modelos celulares, animales y herramientas digitales para la evaluación rigurosa del proceso de cicatrización. Esta brecha limita el avance de la medicina regenerativa en la región y justifica el desarrollo de nuevas metodologías de análisis.

## 1.2 Planteamiento del problema

En Panamá, las lesiones cutáneas representan un desafío creciente para el sistema de salud. Estas abarcan desde heridas traumáticas hasta úlceras crónicas derivadas de la diabetes y enfermedades infecciosas como la leishmaniasis cutánea. Dichas condiciones afectan de manera directa la calidad de vida de los pacientes y generan altos costos sanitarios asociados a tratamientos prolongados (Graves et al., 2022)

La problemática se agrava debido a deficiencias en la gestión hospitalaria. Según informes recientes, la escasez de medicamentos esenciales y la falta de protocolos clínicos estandarizados han limitado el acceso a terapias eficaces (Onuh et al., 2022).

A esto se suma la ausencia de registros fotográficos clínicos sistemáticos, lo cual dificulta el seguimiento evolutivo de las heridas y la evaluación objetiva de nuevas terapias. En consecuencia, existe una necesidad urgente de diseñar modelos experimentales que combinen la investigación científica con herramientas digitales de análisis de imágenes, de manera que se fortalezca la capacidad de evaluar terapias regenerativas y se aporte evidencia científica sólida aplicable al contexto panameño.

Así surgen algunas de investigación, tales como:

1. ¿En qué medida el uso de herramientas computacionales para el análisis semiautomatizado de imágenes permite evaluar de forma objetiva y reproducible el proceso de cicatrización en modelos in vitro e in vivo de lesiones cutáneas?
2. ¿Qué tan eficiente y reproducible es el análisis semiautomatizado de imágenes para cuantificar el cierre de heridas cutáneas?
3. ¿Qué potencial tienen las aplicaciones digitales para complementar el monitoreo clínico del proceso de cicatrización?

### 1.3 Justificación de la investigación

La presente investigación se justifica en diferentes dimensiones. En el ámbito tecnológico, la integración de herramientas computacionales como ImageJ/Fiji y aplicaciones digitales de monitoreo clínico ofrece la posibilidad de cuantificar con mayor precisión el área de cierre de heridas, reduciendo la dependencia de la observación manual y facilitando la generación de datos comparables entre estudios. Esta estrategia no solo aporta rigor científico, sino que también puede adaptarse como un sistema de registro visual aplicable en la práctica clínica (Doğru et al., 2024). En el ámbito científico, se busca aportar al campo de la medicina regenerativa mediante la implementación de un modelo *in vitro* de cicatrización con células madre, evaluado a través de análisis semiautomatizado de imágenes. Este enfoque proporciona un método objetivo, reproducible y estandarizado para estudiar procesos biológicos que tradicionalmente han sido evaluados de manera cualitativa y subjetiva (Landa et al., 2016). Desde una perspectiva social y sanitaria, la investigación responde a la creciente prevalencia de heridas crónicas en la población panameña, asociadas principalmente a la diabetes mellitus, enfermedades vasculares y a infecciones como la leishmaniasis cutánea. Estas condiciones generan altos costos hospitalarios y afectan la calidad de vida de los pacientes debido a la ausencia de protocolos de seguimiento efectivos (Wang et al., 2023).

La relevancia de la propuesta viene dada porque en Panamá no existe metodologías de registro fotográfico clínico estandarizado que permita monitorear de manera sistemática la evolución de las heridas. Estudios internacionales muestran ya cómo herramientas digitales y aplicaciones móviles permiten seguimiento fotográfico constante postquirúrgico (Baniyadi et al., 2023) y se comparan de altamente favorable con otros métodos manuales tradicionales (Kivity et al., 2024).

Adicionalmente, investigaciones usando software de procesamiento de imágenes han evidenciado una confiabilidad intra/interobservador excelente en la medición de áreas de las lesiones cutáneas mediante fotografías digitales, lo que sugiere que dicha metodología es válida y aplicable en los contextos clínicos (Aragón-Sánchez et al., 2017).

## **1.4 Objetivos**

### **Objetivo General**

Analizar el proceso de cicatrización mediante herramientas computacionales para el análisis de imágenes de lesiones cutáneas.

### **Objetivos Específicos**

- I. Estudiar un método de análisis de imágenes utilizando herramientas computacionales y datos experimentales de cicatrización *in vitro*.
- II. Estudiar una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura.

## **1.5 Alcance y límites de la investigación**

Alcance: La investigación comprende el análisis del proceso de cicatrización mediante un enfoque combinado de estrategias *in silico*, basada en datos de modelos *in vitro* e *in vivo*, derivadas de herramientas digitales de análisis de imágenes. En este proyecto se busca generar datos reproducibles que validen la utilidad de estas metodologías en la investigación preclínica.

Límites: El estudio no incluye ensayos clínicos en seres humanos ni pruebas de eficacia terapéutica directa en pacientes. Los resultados estarán orientados al ámbito de laboratorio y datos publicados en revistas científicas.

### **1.6 Línea de investigación a la que pertenece el estudio**

Debe declararse en esta sección que el estudio presentado pertenece a la línea de investigación en Procesamiento de Señales e Imágenes Médicas, específicamente en el tema de ingeniería biomédica aplicada en el ámbito Ingeniería de Tejidos, Biomateriales, y Biomecánica. Específicamente, en el área de evaluación del proceso de cicatrización de lesiones cutáneas utilizando análisis semiautomatizado de imágenes en modelo *in vitro*, como *in vivo*.

## **CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO**

## 2.1 Antecedentes de investigaciones realizadas en el tema

En el campo de la ingeniería tisular y la biomedicina, las investigaciones sobre la regeneración cutánea y el proceso de cicatrización de heridas han evolucionado significativamente durante la última década. Diversos estudios han explorado estrategias que van desde el uso de células madre y biomateriales, hasta el desarrollo de métodos digitales para cuantificar la reparación tisular. A continuación, se presentan antecedentes relevantes que sustentan la presente investigación:

Eylert et al. (2021). *La regeneración de la piel y la cicatrización de heridas después del tratamiento con células estromales mesenquimales dependen de la dosis. Tesis doctoral, Universidad Médica de Graz.*

El estudio evaluó la eficacia de diferentes dosis de células madre mesenquimales (MSC) derivadas de la gelatina de Wharton del cordón umbilical para promover la cicatrización de heridas por quemaduras en cerdos. Los resultados demostraron que dosis más bajas (40.000 células/cm<sup>2</sup>) favorecieron una mayor reepitelización y menor formación de cicatriz, evidenciando que la concentración celular influye directamente en la regeneración cutánea. Este hallazgo contribuye al diseño de terapias celulares más eficientes.

Navarro Requena, C. (2017). *Estimulación de la cicatrización y vascularización de heridas con biomateriales liberadores de calcio. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña.*

La investigación analizó el efecto de las biocerámicas liberadoras de calcio sobre la cicatrización dérmica y la formación de vasos sanguíneos. Se observó que ciertas concentraciones de calcio extracelular estimulan la proliferación de fibroblastos y la

angiogénesis, mientras que niveles excesivos pueden generar respuestas inflamatorias no deseadas. Este estudio aporta una base importante sobre el papel de los iones de calcio en la reparación tisular y la formulación de biomateriales bioactivos.

Ramírez Andreo, A. (2021). *Efecto del tratamiento tópico con diferentes formulaciones de curcumina sobre un modelo de reparación tisular en ratas Sprague-Dawley sanas y diabéticas. Tesis doctoral, Universidad de Murcia.*

El trabajo evaluó la eficacia de formulaciones tópicas de curcumina en nanopartículas sobre la cicatrización de heridas de espesor total. Los resultados mostraron una aceleración significativa en la reepitelización y una mejora en la organización del colágeno, tanto en ratas sanas como diabéticas, confirmando el potencial de los compuestos naturales en la regeneración cutánea.

Weller, CD, et al. (2020). *Imágenes digitales y medición automatizada de la cicatrización de heridas: una revisión sistemática. Wound Repair and Regeneration*, Este artículo revisó los avances en el uso de análisis digital y herramientas computacionales para la medición del área de heridas. Se concluye que los métodos semiautomatizados basados en software como ImageJ o Imito Wound aumentan la precisión y reproducibilidad de las mediciones frente a métodos manuales, validando su uso en investigaciones experimentales y clínicas.

Liu, X., et al. (2023). *Desarrollo de un modelo in vitro de cicatrización de heridas mediante células madre mesenquimales humanas para el análisis cuantitativo de imágenes. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, Este estudio propuso un modelo de cicatrización in vitro con células madre mesenquimales humanas, donde se aplican herramientas de análisis digital para cuantificar la migración celular. El

modelo permitió reproducir con fidelidad las fases del proceso de cierre de herida y demostró que las técnicas de análisis por imagen constituyen un método objetivo y reproducible para estudios de regeneración cutánea.

En conjunto, estos antecedentes evidencian la importancia de integrar modelos experimentales in vitro, biomateriales y análisis digital de imágenes en el estudio de la cicatrización cutánea. La presente investigación se apoya en estos avances, proponiendo un enfoque que combina técnicas computacionales y modelos biológicos para optimizar la evaluación del proceso de curación de heridas.

## **2.2 Bases teóricas que sustentan la investigación**

### **2.2.1 Capas de la piel**

La piel tiene tres capas: epidermis, dermis e hipodermis:

#### **Epidermis**

La epidermis es la capa más superficial de la piel, su función es regular la temperatura corporal y proteger la piel de agresiones externas. La epidermis contiene capas o estratos, los cuales se mencionan a continuación y se pueden observar en la figura 1.

El estrato basal constituye la capa más profunda de la epidermis y está formado por una única hilera de células basales altamente proliferativas. En esta zona se localizan las células madre epidérmicas, responsables de generar nuevas células de recambio. Asimismo, en el estrato basal se encuentran los melanocitos, encargados de producir melanina para la pigmentación de la piel, y las células de Merkel, que participan en la

percepción táctil. Esta capa se encuentra anclada a la lámina basal, una estructura que separa la epidermis de la dermis y regula el intercambio de nutrientes y señales bioquímicas (Ravara et al., 2018).

Sobre esta capa se dispone el estrato espinoso , conformado por aproximadamente ocho a diez filas de queratinocitos interconectados mediante desmosomas, estructuras proteicas que aportan elasticidad y resistencia a la piel. En este nivel también se encuentran las células de Langerhans, las cuales desempeñan un papel clave en la respuesta inmune cutánea al detectar patógenos y activar la respuesta inmune(Rzepka et al., 2005a)

A continuación, se encuentra el estrato granuloso , compuesto por queratinocitos procedentes del estrato espinoso que presentan un aspecto más aplanado y gránulos citoplasmáticos. En esta capa, las células comienzan a perder su núcleo y organelos, preparándose para convertirse en corneocitos. También se localizan los cuerpos lamelares, estructuras que contienen lípidos esenciales para la formación de la barrera cutánea (Abyaneh et al., 2014).

Por encima de esta capa se ubica el estrato lúcido , presente únicamente en la piel gruesa de palmas y plantas. Aquí los queratinocitos están muertos, pero contienen grandes cantidades de queratina y una membrana plasmática compacta, cuya función es reforzar la protección en áreas sometidas a un alto impacto mecánico (Rzepka et al., 2005a)

Finalmente, el estrato córneo constituye la capa más externa de la epidermis. Está formado por corneocitos muertos y aplanados, embebidos en una matriz lipídica que previene la pérdida de agua y protege contra agentes externos. Se caracteriza por su apariencia escamosa y gran resistencia. Este estrato se renueva constantemente

mediante un proceso de descamación controlado, que dura entre cuatro y seis semanas, durante el cual los queratinocitos ascienden progresivamente, pierden proteínas y terminan compactados, aun conteniendo queratina (Abyaneh et al., 2014)

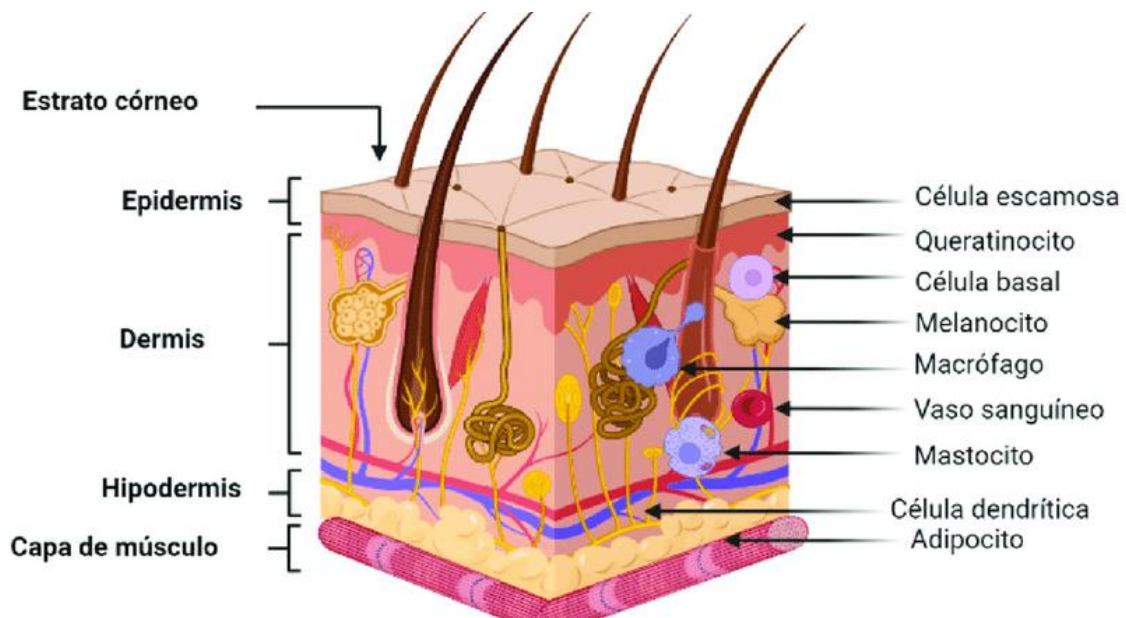


Figura 1: Capas de la piel Fuente: Amaya Zambrano, 2022

En esta capa, también encontramos algunas células como: células de *Langerhans* (tiene una función inmunitaria que ayuda a combatir infecciones), células de *Merkel* (actúan como mecanos receptores, lo cual es responsable del sentido del tacto), melanocitos (producen la melanina y esta es responsable de la pigmentación de la piel) y queratinocitos (producen la queratina, su función principal es proteger la piel (Neagu et al., 2022).

### Tipos de células en la epidermis

La epidermis está compuesta por diversos tipos de células, siendo las más abundantes los queratinocitos, que contienen queratina. Estas células epiteliales escamosas estratificadas conforman la superficie de la piel y se desprenden de

manera continua. Además, son la progenie de las células del estrato basal, responsables de su renovación constante (Karim et al., 2019).

Dentro de la epidermis también se encuentran células no queratinocíticas maduras que cumplen funciones específicas. Entre ellas se destacan los melanocitos, derivados de la cresta neural embrionaria, los cuales sintetizan y almacenan melanina, un pigmento esencial en la determinación del color de la piel y el cabello, además de proporcionar protección frente a la radiación ultravioleta. Estas células se localizan en la capa basal y se observan como estructuras claras con núcleos grandes, redondos y eucromáticos. Gracias a su disposición dendrítica, un solo melanocito puede transferir melanina a aproximadamente treinta queratinocitos (Maksimovic et al., 2014a).

Por otro lado, las células de Langerhans son células dendríticas de origen medular que actúan como presentadoras de antígenos, desempeñando un papel clave en la respuesta inmune cutánea. Se distribuyen principalmente en el estrato espinoso y basal, excepto las zonas donde se encuentran las glándulas sudoríparas. Se caracterizan por la presencia de los gránulos de Birbeck, con forma de barra o raqueta de tenis, y pueden identificarse por su citoplasma eucromático y su desarrollado complejo de Golgi (Otsuka et al., 2018).

Asimismo, las células de Merkel cumplen funciones mecanorreceptoras, facilitando la percepción sensorial. Son células claras y ovoides que se localizan solas o en pequeños grupos dentro del estrato basal. En su base presentan terminaciones nerviosas libres en forma de disco, lo que les permite actuar como receptores de

estímulos táctiles. Investigaciones recientes sugieren, además, un posible papel de estas células como receptores neuroendocrinos (Maksimovic et al., 2014b).

## **La Dermis**

La dermis es la capa intermedia de la piel, ubicada entre la epidermis y la hipodermis. Está formada por tejido conectivo denso o irregular, que les da resistencia y elasticidad gracias a las fibras de colágeno y elastina. Es más gruesa que la epidermis y es donde se generan estrías, que ocurren cuando la dermis sufre una lesión (Green et al., 2014).

Esta capa se divide en dos estratos principales: el estrato papilar y el estrato reticular .

El estrato papilar constituye la porción más superficial de la dermis y está formado por tejido conectivo laxo que contiene una abundante red de capilares sanguíneos. Estos vasos nutren a la epidermis y participan en la regulación de la temperatura corporal mediante procesos de vasodilatación y vasoconstricción. Además, esta capa contiene fibras de colágeno tipo III y elastina, las cuales proporcionan elasticidad y soporte estructural. También alberga células del sistema inmunológico, como macrófagos y mastocitos, que intervienen en la defensa frente a microorganismos patógenos (Green et al., 2014)

Por debajo se encuentra el estrato reticular , la capa más profunda de la dermis, compuesta por tejido conectivo denso irregular con una alta concentración de colágeno tipo I, lo que le confiere gran resistencia mecánica. En esta zona se localizan los anexos cutáneos —como glándulas sebáceas, glándulas sudoríparas y folículos pilosos—, además de una extensa red de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas. La disposición entrelazada de las fibras de colágeno permite que la piel

resista tensiones mecánicas y recupere su forma tras el estiramiento. Esta capa también desempeña un papel esencial en el proceso de cicatrización de heridas, ya que alberga los fibroblastos, células responsables de la síntesis de nueva matriz extracelular (Uitto et al., 2013)

En esta capa también se encuentran vasos sanguíneos, nervios, glándulas sudoríparas y sebáceas, y folículos pilosos. La dermis es importante para la regulación de la temperatura, la sensibilidad, la protección contra golpes y para ayudar en la cicatrización de heridas.

### **Tipos de células en la dermis**

La dermis, situada debajo de la epidermis, está compuesta principalmente por tejido conectivo denso que otorga resistencia y elasticidad a la piel. En su interior se encuentran diversos tipos de células que cumplen funciones estructurales, inmunológicas y sensoriales. Estas células pueden clasificarse en dos grandes grupos: permanentes y migratorias.

Entre las células permanentes, los fibroblastos son los más abundantes y se encargan de sintetizar las fibras de colágeno y elastina, además de la sustancia fundamental de la matriz extracelular, lo que contribuye significativamente a la resistencia y elasticidad del tejido cutáneo (Shi et al., 2024). Los miofibroblastos, por su parte, son fibroblastos especializados con capacidad contráctil que participan activamente en los procesos de cicatrización y reparación tisular (Férrandez-Guarino et al., 2024).

También se encuentran los adipocitos, aunque predominan en la hipodermis, están presentes en menor cantidad en la dermis y desempeñan un papel importante en el almacenamiento de lípidos, así como en la regulación térmica y mecánica de la piel (Férrandez-Guarino et al., 2024).

Otras células permanentes incluyen las células endoteliales, encargadas de recubrir los vasos sanguíneos de la dermis y facilitar el intercambio de nutrientes y oxígeno entre la sangre y los tejidos cutáneos (McGrath & Uitto, 2024). Asimismo, se encuentran las células nerviosas, que comprenden terminaciones libres y receptores especializados capaces de detectar estímulos como presión, temperatura y dolor, contribuyendo así a la función sensorial de la piel (Shi et al., 2024).

Por otro lado, las células migratorias de la dermis participan principalmente en funciones inmunológicas y de defensa. Entre ellas, los macrófagos —derivados de los monocitos sanguíneos— residen en el tejido dérmico y actúan eliminando patógenos y restos celulares. Los mastocitos, caracterizados por su contenido de gránulos ricos en histamina y heparina, desempeñan un papel clave en las respuestas inflamatorias y alérgicas. Los linfocitos migran hacia la dermis en respuesta a infecciones o lesiones, participando en la inmunidad adaptativa, mientras que las células dendríticas actúan como presentadoras de antígenos, capturando y procesando patógenos para activar la respuesta inmune.

Además de estas células, la dermis alberga diversas estructuras anexas, como los folículos pilosos, las glándulas sebáceas y sudoríparas, los vasos sanguíneos y las terminaciones nerviosas. En conjunto, todos estos componentes contribuyen a las múltiples funciones de la piel, entre ellas la protección, la regulación térmica, la sensibilidad y la respuesta inmune. La interacción entre las distintas células y estructuras dérmicas resulta esencial para mantener la integridad y funcionalidad del

tejido frente a los desafíos ambientales y fisiológicos (Férrandez-Guarino et al., 2024).

### **La hipodermis**

La hipodermis, también conocida como tejido subcutáneo, es la capa más profunda de la piel, ubicada debajo de la dermis. Está compuesta principalmente por tejido conectivo laxo y tejido adiposo, el cual cumple funciones esenciales como aislamiento térmico, protección mecánica y reserva energética. (Rzepka et al., 2005b). Además de su función estructural, la hipodermis conecta la piel con músculos y huesos, permitiendo su movilidad sobre estas estructuras. También alberga vasos sanguíneos y nervios, lo que facilita la comunicación con las capas superiores de la piel y su nutrición. En esta capa se encuentran glándulas sudoríparas y folículos pilosos, que intervienen en la regulación térmica y otras funciones dérmicas. (Green et al., 2014). El grosor de la hipodermis varía según la zona del cuerpo y el porcentaje de grasa de cada persona, lo que influye en la forma y protección de las estructuras subyacentes.

#### **2.2.2 Lesiones y daños cutáneos**

Los daños cutáneos, también conocidos como lesiones y heridas, incluyen cortes, quemaduras, enfermedades de la piel, incisiones quirúrgicas, trastornos metabólicos (como la diabetes) y otros problemas que afectan la estructura y la función de la piel. Estas lesiones pueden ser graves y poner en riesgo la salud de la persona. Las lesiones son daños causados por caídas, golpes, accidentes, quemaduras, entre otras cosas. Además, la piel también puede verse afectada por alergias, problemas genéticos o enfermedades como las del sistema inmunitario. Estas enfermedades

pueden causar enrojecimiento, hinchazón, ardor, picazón, urticaria, sarpullido y otras dificultades en la piel (Richmond & Harris, 2014).

### **Las quemaduras.**

Implican diferentes daños al tejido de la piel y pueden darse por causa del calor, electricidad, radiación, sustancias químicas y sobreexposición al sol. Hay 3 niveles de quemaduras: (i) *Las quemaduras de primer grado*: solo afecta la epidermis la cual es la capa más superficial de la piel. Puede producir un enrojecimiento en el área afectada, también puede verse reseca y esta quemadura puede presentar ligero dolor e hinchazón; (ii) *Las quemaduras de segundo grado o espesor parcial*: afecta la epidermis y dermis (superior o inferior), esta lesión puede presentar enrojecimiento, hinchazón, ampollas y dolor. Puede observarse la lesión blanca, roja o manchada; (iii) *Las quemaduras de tercer grado o espesor total*: en esta lesión se puede ver afectada hasta parte más profunda de la piel (hipodermis), la cual podemos observar la piel en tonos desiguales como de blancos a un color más oscuro como el marrón. Este tipo de lesión puede causar mínimo dolor ya que la zona se encuentra adormecida.

### **Las úlceras por causa del pie diabético.**

Esta lesión es causada por altos niveles de glucosa en sangre. La glucosa es muy importante para nuestro cuerpo esto nos proporciona energía para las células las cuales nos proporcionan tejidos y músculo. Las afecciones de Diabetes son de 2 tipos. La diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2. Una de las complicaciones de la diabetes es el conocido como “pie diabético”. Esta complicación daña los nervios del pie o causa flujo insuficiente de sangre en los pies, esto aumenta las complicaciones y deficiencia

de colágeno. De no tratarse las lesiones como corte y ampollas puede ocasionar infecciones que el cuerpo no tiene la capacidad de cicatrizar adecuadamente. Muchos de estos pacientes requieren de la amputación del dedo, pie o de la pierna (Black, 2003).

### **Corte cutánea.**

Esta lesión es ocasionada por una ruptura o abertura en la piel. También podemos conocerla como “laceración”. Estas pueden ser profundas, lisas o con apariencia mellado. Estas lesiones pueden verse contaminadas por bacterias o cualquier residuo del objeto que causó el corte.

### **2.2.3 Proceso de curación de heridas.**

Cuando se produce una herida, el cuerpo comienza de inmediato el proceso de curación para restaurar tanto la estructura como las funciones de la piel. Este proceso involucra varias fases coordinadas: hemostasia, inflamación, proliferación y remodelación como se ve representado en la figura 2. Cada una de estas fases juega un papel crucial para asegurar una curación adecuada y evitar complicaciones. Durante estas etapas, las células del cuerpo, los factores de crecimiento y las citoquinas interactúan para lograr la sanación (Xue & Jackson, 2015).

### **Fases del proceso de curación.**

El proceso de cicatrización es una serie de eventos celulares y moleculares interconectados que permiten la restauración de la integridad del tejido tras una lesión. Este proceso se divide en cuatro fases principales:

## **Hemostasia**

Es la primera respuesta inmediata del cuerpo ante una herida. En esta fase, Se activa la cascada de coagulación, lo que conlleva a la formación de un coágulo sanguíneo compuesto por fibrina y plaquetas. Este coágulo no solo detiene la pérdida de sangre, sino que también proporciona una matriz provisional para la migración celular y la reparación tisular. Además, las plaquetas liberan factores de crecimiento como el PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) y el TGF- $\beta$  (factor de crecimiento transformante beta), que inician la fase inflamatoria (Velnar et al., 2009)

## **Inflamación.**

Durante las primeras 24 a 48 horas, los neutrófilos migran al sitio de la herida para eliminar microorganismos y restos celulares mediante fagocitosis. Posteriormente, los macrófagos reemplazan a los neutrófilos y desempeñan un papel crucial en la reparación, secretando citocinas y factores de crecimiento que regulan la respuesta inmune e inician la fase proliferativa. Esta etapa se caracteriza por enrojecimiento, hinchazón y dolor debido al aumento de la permeabilidad vascular y la liberación de mediadores inflamatorios como la histamina y las prostaglandinas (Baum & Arpey, 2006)..

## **Proliferación.**

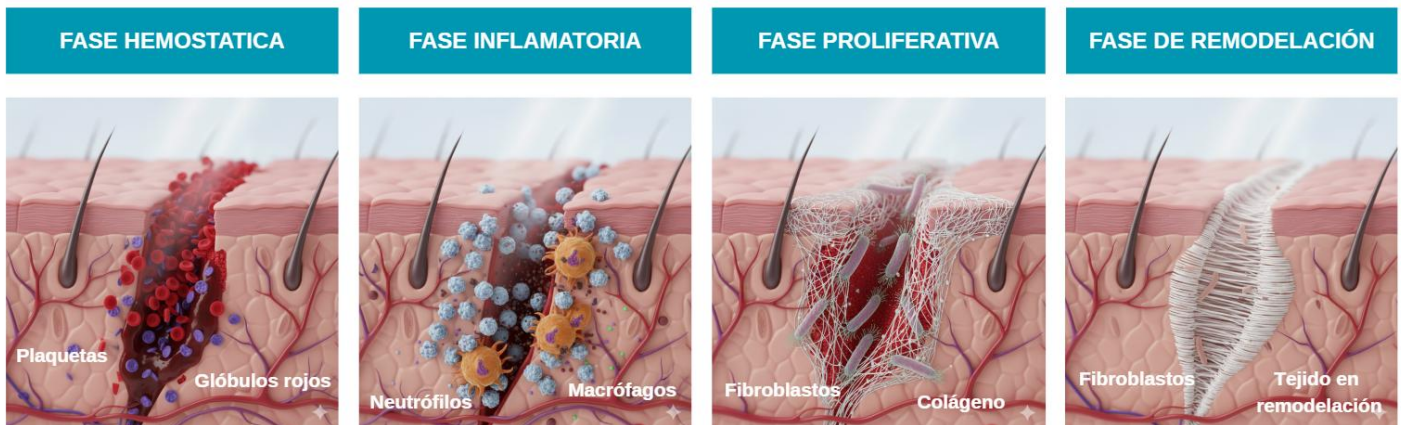
En esta etapa, entre el tercer y décimo día post-lesión, se inicia la proliferación celular. Los fibroblastos migran hacia la herida y comienzan a producir colágeno tipo III y matriz extracelular, fundamentales para la formación del tejido de granulación. Paralelamente, ocurre la angiogénesis, proceso mediante el cual se forman nuevos vasos sanguíneos a partir de los preexistentes, lo que facilita la oxigenación y nutrición del tejido en reparación. Las células epiteliales de la epidermis proliferan y

migran para cerrar la herida en un proceso conocido como reepitelización (Velnar et al., 2009,).

### Remodelación.

También llamada fase de maduración puede durar semanas o incluso meses. Durante este período, el colágeno tipo III depositado en la fase proliferativa es reemplazado por colágeno tipo I, más resistente. Esto proporciona una mayor estabilidad y resistencia mecánica a la piel. Además, la matriz extracelular se reorganiza y los miofibroblastos contribuyen a la contracción de la herida, reduciendo su tamaño. Finalmente, los vasos sanguíneos que ya no son necesarios regresan a un estado de homeostasis mediante apoptosis (Witte & Barbul, 1997)

## Cicatrización de las heridas



*Figura 2: Etapas del proceso fisiológico de cicatrización cutánea. Fuente: Elaboración propia.*

### Clasificación de las heridas

Las heridas pueden clasificarse en dos grandes categorías según el tiempo que requieren para su cicatrización y la evolución de su proceso de curación: agudas y crónicas.

Las heridas agudas son aquellas que cicatrizan en un período predecible, generalmente menor a tres semanas. Se caracterizan por presentar una respuesta inflamatoria controlada y un proceso de regeneración tisular eficiente. Dentro de este grupo se incluyen lesiones como las laceraciones, abrasiones y quemaduras superficiales, las cuales suelen resolverse sin complicaciones mayores (Mahmoudi & Gould, 2020).

En contraste, las heridas crónicas son aquellas que no logran completar su proceso de reparación dentro del tiempo esperado, permaneciendo estancadas en la fase inflamatoria. Este tipo de lesiones suele estar relacionado con condiciones subyacentes como insuficiencia vascular, diabetes mellitus o infecciones persistentes. Entre los ejemplos más comunes se encuentran las úlceras por presión y las úlceras diabéticas, que representan un desafío clínico por su dificultad para cicatrizar y su tendencia a la recurrencia (Mahmoudi & Gould, 2020).

#### ***2.2.4 Apósitos en el proceso de curación***

El uso de apósitos desempeña un papel fundamental en el proceso de cicatrización, ya que permite mantener un ambiente húmedo y protegido, favoreciendo la regeneración tisular y evitando la contaminación microbiana. La selección del tipo de apósito depende de las características de la herida, el nivel de exudado y los objetivos terapéuticos específicos.

Los apósitos hidrocoloides mantienen un entorno húmedo que favorece la migración celular y la autólisis del tejido necrótico, siendo especialmente útiles en heridas con exudado moderado (Nguyen et al., 2023). Por otro lado, los **apósitos de alginato**, derivados de algas marinas, poseen una elevada capacidad de absorción, lo que los hace adecuados para heridas con exudado abundante. Además, promueven la

activación de macrófagos y la proliferación de fibroblastos, procesos esenciales en la reparación tisular (Weller et al., 2020).

Los apósitos de espuma de poliuretano proporcionan una excelente absorción y protección frente a agentes externos, siendo recomendados para heridas de moderadas a severamente exudativas. Su uso contribuye a evitar la maceración de los bordes de la herida y a mantener la integridad del tejido circundante (Vivcharenko & Przekora, 2021). Asimismo, los apósitos antimicrobianos, que contienen compuestos como plata o yodo, reducen la carga microbiana en heridas infectadas o con alto riesgo de infección, previniendo complicaciones infecciosas (Vivcharenko & Przekora, 2021).

Finalmente, los apósitos bioactivos representan una innovación en el tratamiento avanzado de heridas, ya que están impregnados con factores de crecimiento o células madre que estimulan la regeneración tisular. Estos apósitos resultan especialmente útiles en el manejo de heridas crónicas o de difícil cicatrización, donde los mecanismos naturales de reparación se encuentran comprometidos (Yang et al., 2024).

### ***2.2.5 Uso de software en la investigación de heridas:***

#### **Software ImageJ.**

El software ImageJ es una herramienta de análisis de imágenes desarrollada originalmente por Wayne Rasband en los Institutos Nacionales de Salud (NIH), con el propósito de proporcionar una plataforma abierta, flexible y accesible para el procesamiento de imágenes científicas. Desde su lanzamiento en 1997, ImageJ se ha consolidado como uno de los programas más utilizados en el ámbito biomédico,

debido a su compatibilidad con múltiples formatos, su capacidad de automatización y la gran cantidad de complementos (plugins) desarrollados por la comunidad científica (Rueden et al., 2017).

Su versión extendida, conocida como Fiji (Fiji Is Just ImageJ), incorpora un conjunto de herramientas adicionales que facilitan el análisis cuantitativo de imágenes biológicas, incluyendo macros preinstaladas, paquetes de procesamiento tridimensional y herramientas para análisis estadístico. Una de las principales ventajas de ImageJ/Fiji es su carácter de código abierto, lo que permite a los usuarios adaptar los algoritmos de procesamiento a las necesidades específicas de cada experimento (Schindelin et al., 2012)

En el ámbito de la biología celular y la ingeniería tisular, ImageJ se utiliza ampliamente para cuantificar parámetros morfológicos como el área, perímetro, densidad óptica, intensidad de fluorescencia y conteo de partículas. Estas funciones permiten analizar fenómenos biológicos dinámicos, como la proliferación celular, la angiogénesis o la migración, mediante la interpretación de imágenes obtenidas por microscopía óptica, confocal o electrónica. Además, la posibilidad de trabajar con secuencias de imágenes en el tiempo (time-lapse) facilita la observación del comportamiento celular en procesos de reparación y regeneración tisular (Collins, 2007)

Entre las herramientas más relevantes aplicadas a estudios de cicatrización de heridas in vitro, destaca el complemento denominado Wound Healing Tool o Wound Healing Size Tool, desarrollado específicamente para el análisis automatizado de ensayos de cierre celular. Este complemento permite delimitar el área libre inicial ( $A_0$ )

y final ( $A_t$ ) dentro de una secuencia de imágenes, y calcular de forma precisa el porcentaje de cierre de herida utilizando la ecuación:

$$\text{Porcentaje de cierre (\%)} = \frac{A_o - A_t}{A_o} \times 100$$

Este procedimiento automatizado reduce la variabilidad asociada a la medición manual y mejora la reproducibilidad de los resultados. De acuerdo con Suárez-Arnedo et al., la aplicación del complemento Wound Healing Tool permite obtener mediciones más consistentes en estudios de migración celular, al estandarizar la selección del área y eliminar el sesgo del observador (Suarez-Arnedo et al., 2020)

Otra característica importante de ImageJ/Fiji es su capacidad para generar macros, es decir, secuencias de comandos que automatizan tareas repetitivas, como la segmentación de imágenes, la calibración de escala o el análisis de lotes de fotografías. Esto resulta especialmente útil en investigaciones donde se manejan grandes volúmenes de datos o series temporales extensas, como ocurre en los estudios de cicatrización. Además, ImageJ puede integrarse con otros lenguajes de programación como Python o MATLAB, ampliando así su capacidad de análisis y su potencial para el desarrollo de algoritmos personalizados (Rueden et al., 2017).

En el contexto de esta investigación, ImageJ/Fiji fue empleado para analizar el cierre de heridas generadas en un modelo in vitro con células madre mesenquimales humanas (CMM) cultivadas en la plataforma Silicon Ibidi®. Las imágenes obtenidas en intervalos de tiempo definidos fueron procesadas mediante el complemento Wound Healing Tool, lo que permitió calcular el porcentaje de cierre a diferentes tiempos (0, 120, 180, 225 y 260 minutos). Este enfoque permitió cuantificar de forma objetiva la migración celular y representar gráficamente la evolución del proceso de cicatrización.

La versatilidad de ImageJ lo convierte en una herramienta fundamental no solo para el análisis de datos experimentales en el laboratorio, sino también para el desarrollo de metodologías reproducibles que integran la microscopía digital con técnicas computacionales. En comparación con softwares comerciales, ImageJ ofrece la ventaja de ser gratuito, transparente y ampliamente validado por la comunidad científica, lo que garantiza su confiabilidad y facilita su adopción en entornos académicos y clínicos.

En conclusión, el uso de ImageJ/Fiji en el estudio del proceso de cicatrización representa una estrategia eficiente y accesible para el análisis de imágenes biomédicas. Su aplicación contribuye a estandarizar las mediciones, mejorar la precisión en la cuantificación del cierre de heridas y fomentar la integración de herramientas computacionales en la investigación regenerativa.

### **Software de análisis de lesión cutánea *Imito Wound*.**

En los últimos años, el desarrollo de tecnologías digitales aplicadas al ámbito clínico se ha transformado de la manera en que se documentan y evalúan las lesiones cutáneas. El uso de software especializado para el análisis digital de heridas permite obtener mediciones más precisas, reducir el error humano y estandarizar el seguimiento de los pacientes. Estas herramientas combinan el procesamiento de imágenes con algoritmos de inteligencia artificial (IA) y aprendizaje automático, facilitando la cuantificación objetiva de parámetros morfológicos como el área, perímetro, color y profundidad de la herida (Gao et al., 2022a)

Tradicionalmente, la evaluación clínica de heridas se realizaba mediante observación directa y medición manual con reglas o plantillas transparentes, métodos que presentan alta variabilidad Inter observador y depende en gran medida de la

experiencia del profesional. En contraste, los softwares de análisis digital proporcionan una evaluación reproducible y estandarizada, permitiendo monitorear la evolución de la herida a lo largo del tiempo y comparar los efectos de diferentes tratamientos (Suarez-Arnedo et al., 2020b)(Suarez-Arnedo et al., 2020b).

Entre los programas más utilizados a nivel internacional se encuentran IMITO Wound , Tissue Analytics, WoundMatrix y eKare inSight, cada uno con funcionalidades adaptadas al contexto clínico y de investigación.

El software IMITO Wound es una aplicación móvil desarrollada por la compañía suiza imito AG, diseñada para capturar y analizar imágenes clínicas de heridas de forma estandarizada. Utiliza la cámara de un teléfono inteligente para registrar fotografías calibradas mediante tarjetas de referencia de color y escala, garantizando precisión en la medición del área de la herida (Kabir et al., 2024a). Además, permite generar informes automáticos con información sobre la evolución del tamaño, color y tipo de tejido presente, lo que facilita el seguimiento longitudinal de pacientes hospitalizados o ambulatorios. Su interfaz amigable y su capacidad para integrarse a registros médicos electrónicos la han posicionado como una de las aplicaciones más efectivas en entornos clínicos europeos y latinoamericanos.

La implementación de este tipo de tecnologías tiene un valor significativo para la medicina regenerativa y la ingeniería biomédica, ya que facilita la obtención de datos cuantitativos de alta calidad, útiles tanto en investigación como en la práctica clínica. En los estudios experimentales, estas plataformas pueden complementar los análisis realizados con softwares de laboratorio como ImageJ/Fiji, aportando una validación visual y digital de los resultados obtenidos in vitro. En el ámbito hospitalario, permiten el seguimiento fotográfico automatizado y la creación de bases de datos clínicos que

contribuyen a la detección temprana de complicaciones y a la evaluación objetiva de terapias tópicas o regenerativas (Gao et al., 2022a).

En el contexto panameño, la aplicación de estos softwares aún es limitada, debido a la ausencia de protocolos nacionales de registro fotográfico clínico ya la falta de integración de herramientas digitales en los sistemas hospitalarios públicos. Sin embargo, la creciente disponibilidad de dispositivos móviles y plataformas de bajo costo como IMITO Wound abre la posibilidad de implementar sistemas de monitoreo estandarizado que permitan un seguimiento más eficiente de los pacientes con lesiones cutáneas. La adopción de este tipo de herramientas no solo contribuiría a mejorar la calidad de la atención, sino que también fortalecería la capacidad investigativa local en el área de cicatrización y regeneración tisular.

En síntesis, el uso de software de análisis de lesiones cutáneas representa una tendencia creciente hacia la digitalización de la medicina regenerativa y la atención clínica. Estas herramientas ofrecen una alternativa innovadora para la documentación y cuantificación del proceso de cicatrización, garantizando mediciones más precisas, reproducibles y visualmente interpretables. Su integración con metodologías de análisis de laboratorio, como las aplicadas en esta investigación, constituye un paso importante hacia la implementación de enfoques tecnológicos más modernos, sostenibles y basados en evidencia.

### 2.3 Glosario de termino

**Adipocitos:** Células del tejido adiposo encargadas de almacenar lípidos y regular la temperatura corporal, aportando protección mecánica. (Fernández-Guarino et al., 2024)

**Alginas (Alginatos):** Polisacáridos derivados de algas marinas con alta capacidad de absorción; se emplean en apósitos para heridas con exudado abundante. (Weller et al., 2020)

**Angiogénesis:** Proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los existentes, esenciales para el suministro de oxígeno y nutrientes en la cicatrización. (Mahmoudi y Gould, 2020)

**Apoptosis:** Mecanismo fisiológico de muerte celular programado que permite eliminar células dañadas o innecesarias durante la remodelación tisular. (Abyaneh et al., 2014)

**Biomaterial:** Sustancia natural o sintética diseñada para interactuar con sistemas biológicos y apoyar procesos de reparación o regeneración de tejidos. (Yang et al., 2024)

**Dermis:** Capa intermedia de la piel compuesta por tejido conectivo denso, rica en colágeno y elastina; Brinda soporte estructural, vascularización y sensibilidad. (Uitto et al., 2013)

**Epidermis:** Capa más externa de la piel formada principalmente por queratinocitos; Protéjase frente a agresiones externas y regule la pérdida de agua. (Ravara et al., 2018)

**Fibroblastos:** Células del tejido conectivo que sintetizan colágeno, elastina y matriz extracelular, esenciales en la reparación de heridas. (Shi et al., 2024)

Miofibroblastos: Variante especializada de fibroblastos con capacidad contráctil, involucrados en el cierre de heridas y la cicatrización. (Fernández-Guarino et al., 2024)

Queratinocitos: Células principales de la epidermis son encargadas de la producción de queratina, proteína que aporta resistencia y protección a la piel. (Karim et al., 2019)

Wound Healing Tool: Complemento de ImageJ/Fiji que permite medir el área libre de células en ensayos de migración y calcular el porcentaje de cierre de heridas. (Imágenes de recursos de Montpellier, 2023)

IMITO Wound: Aplicación móvil para el análisis digital y seguimiento de heridas, utilizada en la cuantificación del proceso de cicatrización. (Nguyen et al., 2023)

## **CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO**

### 3.1 Tipo y diseño de la investigación.

La presente investigación es de *tipo experimental*, dado que implica la manipulación y control de variables con el propósito de analizar su efecto en el proceso de cicatrización de heridas cutáneas. El enfoque experimental permite establecer relaciones de causa-efecto y evaluar de manera objetiva la eficacia de métodos de análisis digital aplicados en modelos *in vitro* e *in vivo*. Desde el punto de vista metodológico, se adoptó un diseño cuasiexperimental, estructurado en tres fases que corresponden a los objetivos específicos de la investigación:

- **Fase I (Objetivo 1.1): Estudiar un método de análisis de imágenes utilizando herramientas computacionales y datos experimentales de cicatrización in vitro obtenidos en la literatura.** En esta etapa se recopilaron imágenes publicadas en la literatura científica y se procesaron utilizando el software ImageJ/Fiji, aplicando el complemento *Wound Healing Size Tool*. El diseño es de carácter exploratorio y analítico, ya que buscó validar la capacidad de la herramienta para cuantificar el cierre de heridas de forma semiautomatizada.
- **Fase II (Objetivo 1.2): Estudio de un modelo in vitro de cicatrización. Se utilizaron células madre mesenquimales humanas cultivadas en insertos de silicona para generar una herida controlada.** Las imágenes obtenidas a lo largo del experimento fueron procesadas digitalmente, permitiendo cuantificar la dinámica de migración celular. En esta fase el diseño es experimental in vitro, puesto que se controlaron condiciones del cultivo y se evaluó la respuesta biológica al procedimiento.
- **Fase III (Objetivo 2): II. Estudiar una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis**

**semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura**, las cuales fueron procesadas con la aplicación móvil IMITO Wound para medir y delimitar el área de las heridas. Este diseño corresponde a un estudio de validación digital con base documental, orientado a comprobar la utilidad de aplicaciones móviles en la investigación preclínica.

Este diseño metodológico combina enfoques experimentales y documentales, integrando análisis *in vitro* con la validación digital de imágenes de modelos murinos reportados en la literatura.

### **3.2 Población y muestra.**

La población objeto de estudio corresponde a imágenes experimentales de heridas cutáneas, provenientes de tres fuentes:

- Imágenes de cicatrización *in vitro* publicadas en la literatura científica internacional.
- Imágenes generadas en el modelo experimental *in vitro* con células madre mesenquimales humanas.
- Imágenes de heridas cutáneas en modelos murinos reportadas en artículos científicos.

La muestra fue intencional y no probabilística, seleccionada con base en criterios de relevancia científica, claridad de las imágenes y aplicabilidad al análisis digital. Se conformó de la siguiente manera:

Para el Objetivo 1 , se emplearon imágenes de ensayos de cicatrización celular (scratch assay) extraídas de cuatro artículos científicos relevantes, con el propósito de evaluar la aplicabilidad de herramientas computacionales para el análisis del cierre celular. Además, se generó una serie de imágenes experimentales en el modelo in vitro desarrollado con células madre mesenquimales humanas, las cuales fueron capturadas en intervalos regulares de tiempo para documentar la progresión de la cicatrización.

En cuanto al Objetivo 2 , la muestra correspondió a imágenes de heridas murinas obtenidas de tres estudios representativos, seleccionadas por su calidad visual y documentación temporal del proceso de cicatrización. Estas imágenes fueron utilizadas para analizar el desempeño de una aplicación digital en el monitoreo semiautomatizado de lesiones cutáneas en modelos animales.

### **3.2.1 Cálculo del muestreo.**

No se aplicó un cálculo de muestreo probabilístico, ya que la investigación no se basó en una población de sujetos humanos, sino en imágenes experimentales y documentales. Por ello, la selección de la muestra respondió a un criterio intencional, orientado a garantizar la pertinencia y calidad de los datos para el análisis digital de cicatrización.

### **3.2.2 Criterio de inclusión y exclusión**

Con el propósito de garantizar la validez y reproducibilidad de los resultados, se determinan criterios específicos para la selección de las imágenes analizadas, considerando tanto su origen como sus características técnicas.

En el modelo in vitro, se incluyen imágenes provenientes de estudios científicos publicados con número DOI, enfocados en el análisis del proceso de regeneración cutánea. Estas imágenes correspondieron a líneas celulares relevantes para el estudio de la cicatrización, incluyendo células madre mesenquimales, fibroblastos y queratinocitos. Se seleccionaron únicamente aquellas que mostraban heridas claramente delimitadas, generadas mediante el método de rayado (scratch assay) o técnicas equivalentes, y que poseían una resolución y contraste adecuados para permitir la delimitación precisa del borde celular mediante ImageJ/Fiji. Asimismo, se incluyeron imágenes que presentaban una secuencia temporal completa, evidenciando la migración celular y el cierre progresivo de la herida.

En cuanto al modelo murino, se considerarán únicamente imágenes procedentes de fuentes científicas verificadas y publicadas con DOI, que representaban heridas de espesor total documentadas fotográficamente durante el proceso de cicatrización. Se seleccionaron aquellas que mostraban iluminación, enfoque y escala adecuados para su análisis en la aplicación IMITO Wound, y que reflejaban condiciones experimentales comparables, como el área inicial de la herida y la ausencia de signos visibles de infección.

Por otro lado, se excluyeron las imágenes que presentaban baja calidad o falta de nitidez, lo que dificultaba la delimitación del área de herida, así como aquellas que carecían de escala o referencia temporal para su análisis cuantitativo. También se descartaron las imágenes que mostraran contaminación o daño estructural en los cultivos celulares o que hubieran sido sometidas a algún tipo de procesamiento digital o edición previa que alterara su morfología original.

### **3.3 Descripción de materiales, equipos y software.**

La selección de los instrumentos de recolección y análisis de datos se fundamentó en los objetivos específicos del estudio, con el propósito de garantizar la precisión, reproducibilidad y trazabilidad de los resultados obtenidos.

Objetivo 1.1: Estudiar un método de análisis de imágenes utilizando herramientas computacionales y datos experimentales de cicatrización in vitro obtenidos en la literatura.

Para este objetivo se emplearon herramientas computacionales orientadas al procesamiento digital de imágenes científicas. Se utilizó el software ImageJ/Fiji (National Institutes of Health, EE. UU.), junto con el complemento Wound Healing Size Tool , el cual permite la delimitación semiautomatizada del área de herida y el cálculo del porcentaje de cierre. Este software trabaja con imágenes en formatos .jpg , .png o .tiff, y permite aplicar procesos de binarización y umbralado para la detección precisa de bordes celulares.

Los resultados fueron posteriormente procesados con el programa GraphPad Prism (GraphPad Software, EE. UU.), utilizado para la organización de los datos numéricos, análisis estadístico descriptivo y la representación gráfica de la evolución de la cicatrización.

Las imágenes analizadas en esta etapa provinieron de estudios científicos publicados en revistas indexadas, con número DOI. Dichas imágenes cumplían con las siguientes características técnicas: resolución mínima de 300 dpi, buena iluminación y contraste,

formato digital sin cambios de color o morfología, y presencia de una escala o referencia espacial.

Objetivo 1.2: Estudio de un modelo in vitro de cicatrización. Se utilizaron células madre mesenquimales humanas cultivadas en insertos de silicona para generar una herida controlada.

En esta fase se emplearon equipos y reactivos de laboratorio destinados al cultivo y observación de células madre mesenquimales humanas. Entre los equipos utilizados se incluyen: microscopio invertido Olympus CKX53 con cámara digital Olympus EP 50 (resolución óptica de 5.0 MP), centrifuga Fristaden Lab , contador automatizado de células EVE PLUS (NanoEntek), incubadora Thermo Scientific 800DH/3598, cabina de flujo laminar LabConco LOGIC+, baño maría JISICO J-BAS8 y autoclave Gnatus Bioclave 12 litros.

Se emplearon reactivos como Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), suero fetal bovino (FBS), Dimetilsulfóxido (DMSO), TripLE X y penicilina-estreptomicina al 1 % , todos de grado celular y certificados por su uso en cultivo.

Las imágenes se capturaron en intervalos regulares de tiempo durante el proceso de cicatrización, manteniendo condiciones controladas de temperatura (37 °C) y atmósfera (5 % CO<sub>2</sub>). Las fotografías microscópicas fueron almacenadas en formato .tiff con resolución de 2048 × 1536 píxeles , garantizando la fidelidad visual para su posterior análisis digital.

El método de evaluación implementado se basó en la delimitación semiautomatizada del área libre de células mediante ImageJ/Fiji, utilizando la métrica de porcentaje de cierre de herida (%), definida como:

$$\text{Porcentaje de cierre (\%)} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100$$

Donde  $A_0$  representa el área inicial de la herida y  $A_t$  el área medida en cada intervalo de tiempo.

Objetivo 2: Estudiar una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura.

Para este objetivo se utilizó la aplicación digital IMITO Wound , diseñada para la medición automatizada del área de heridas en modelos animales. Esta herramienta permite registrar el perímetro y área de la herida en tiempo real, empleando un sistema de calibración basado en una referencia de escala incluida en cada imagen.

Las imágenes utilizadas provinieron de artículos científicos con número DOI, que documentaban heridas de espesor total en ratones de laboratorio. Solo se considerarán aquellas con iluminación homogénea, enfoque nítido, escala visible y formato digital estándar (.jpg o .png).

Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente con GraphPad Prism , generando curvas de cierre de herida y comparaciones de tendencias entre distintos tiempos experimentales. La métrica principal de evaluación fue también el porcentaje de reducción del área de la herida , calculado a partir de los valores iniciales y finales de cada registro.

### 3.4 Procedimiento de la Investigación

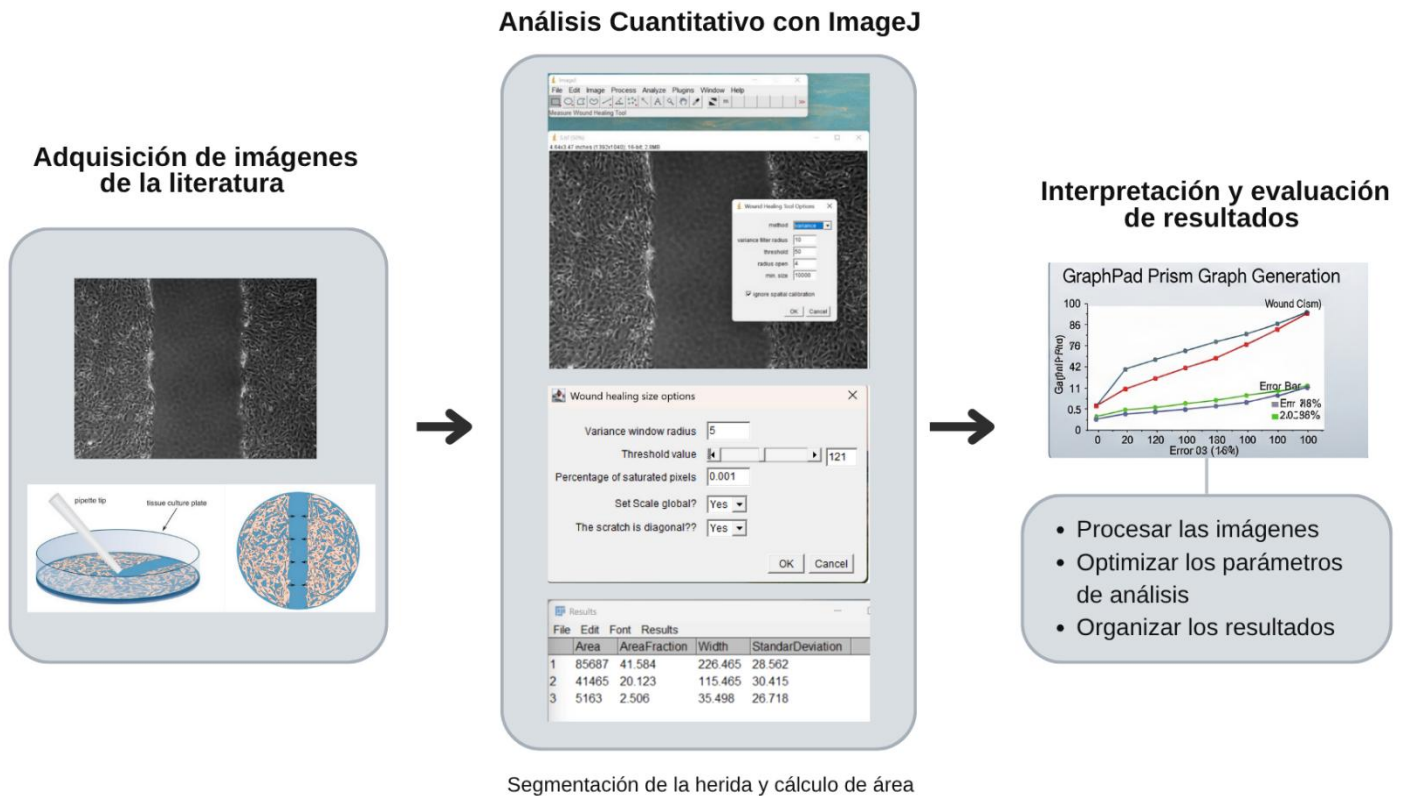
Objetivo 1.1: Estudiar un método de análisis de imágenes utilizando herramientas computacionales y datos experimentales de cicatrización in vitro obtenidos en la literatura.

En esta primera etapa, se realizó una revisión documental centrada en estudios científicos que utilizaron modelos in vitro para evaluar el proceso de cicatrización celular, específicamente mediante ensayos de migración conocidos como ensayos de cicatrización de heridas. El objetivo principal fue identificar imágenes representativas publicadas en artículos relevantes para, con ello, implementar el uso de herramientas computacionales para el análisis de la migración celular.

Se seleccionaron cuatro estudios relevantes que emplean este tipo de ensayos, incluyendo investigaciones sobre mecanismos de migración celular colectiva (Ilin & Friedl, 2009), modelos experimentales de cicatrización bajo influencia de campos electromagnéticos (Costantini et al., 2022), aplicaciones terapéuticas de compuestos bioactivos como la hispidina (Liu et al., 2024), ensayos con ácido salvianólico B (Szwedowicz et al., 2021), así como una secuencia fotográfica. publicado por Szwedowicz que ilustra la progresión temporal del cierre de herida.

Las imágenes extraídas de estos estudios fueron procesadas con el software ImageJ, utilizando el complemento *Wound\_healing\_size\_tool (Individual Image Analysis)*, una extensión diseñada específicamente para cuantificar el área libre de células en imágenes de ensayos de cicatrización. Este análisis permitió familiarizarse con el funcionamiento de la herramienta, evaluar su precisión y comprobar la utilidad del complemento para la segmentación automática del área de herida y la delimitación de bordes celulares.

En la Figura 3 se muestra el esquema metodológico para la cuantificación digital de imágenes mediante el uso de herramientas computacionales, que resume el flujo de trabajo aplicado durante esta etapa del estudio.



*Figura 3: Esquema metodológico para la cuantificación digital de imágenes mediante el software ImageJ. Fuente: Elaboración propia.*

Durante el análisis, se compararon imágenes tomadas en diferentes puntos temporales dentro de cada experimento, lo que permitió observar el patrón de migración celular, el avance del borde de cierre, y los tiempos aproximados de respuesta en condiciones experimentales variadas. Además, se evaluarán posibles errores en la detección de bordes, y se identificarán los ajustes necesarios en el umbral de procesamiento de imágenes para mejorar la exactitud de las mediciones. Esta etapa resultó fundamental para validar el uso de herramientas computacionales como apoyo en la cuantificación del proceso de cicatrización celular, y sirvió como

preparación técnica para el posterior análisis de imágenes obtenidas en los experimentos desarrollados durante el presente proyecto.

Objetivo 1.2: Estudio de un modelo *in vitro* de cicatrización. Se utilizaron células madre mesenquimales humanas cultivadas en insertos de silicona para generar una herida controlada.

En esta etapa, también se desarrolló un modelo experimental de cicatrización *in vitro* utilizando insertos de silicona tipo Ibidi de 4 compartimentos, adaptados a una placa Petri. Las células madre mesenquimales humanas (hMSCs) se cultivaron hasta alcanzar una confluencia adecuada en los compartimientos laterales del inserto. Una vez retirado el inserto, se generó una brecha celular controlada que simuló una herida, permitiendo observar y cuantificar la migración celular hacia el centro de la zona libre.

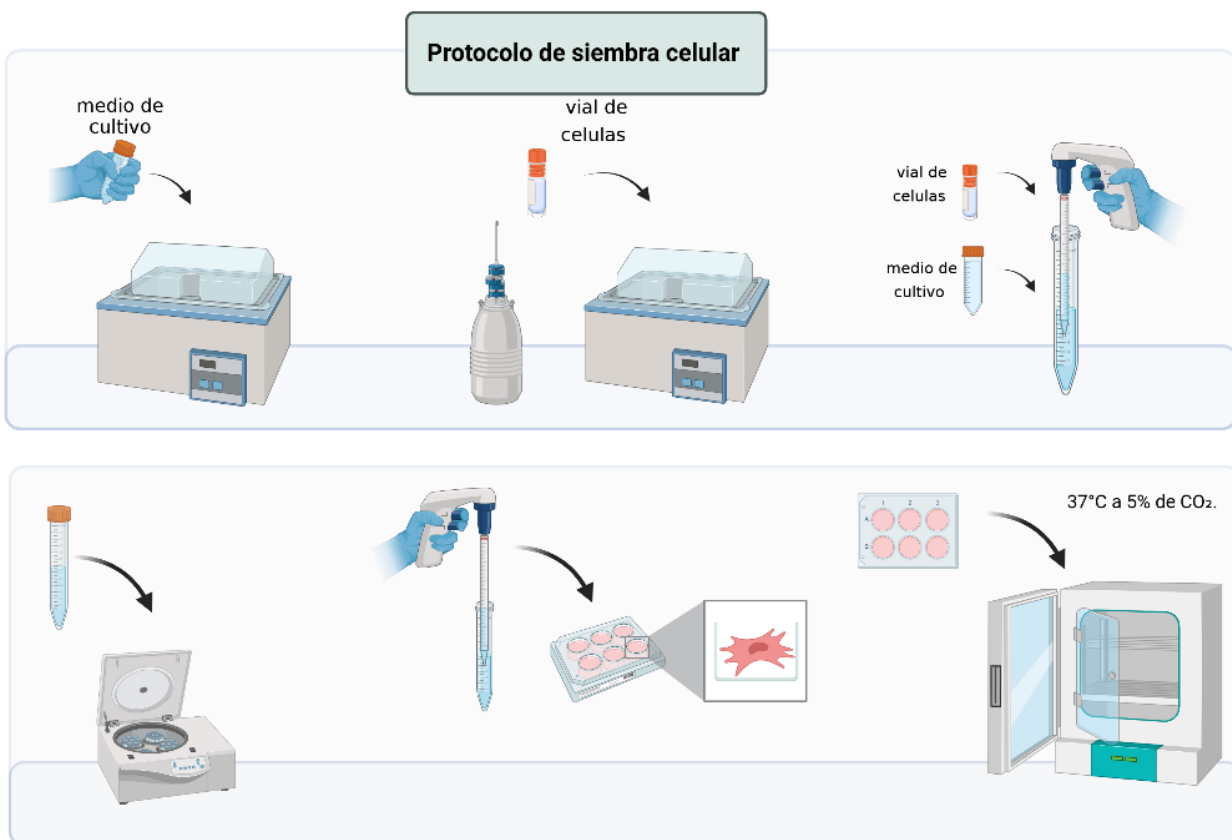
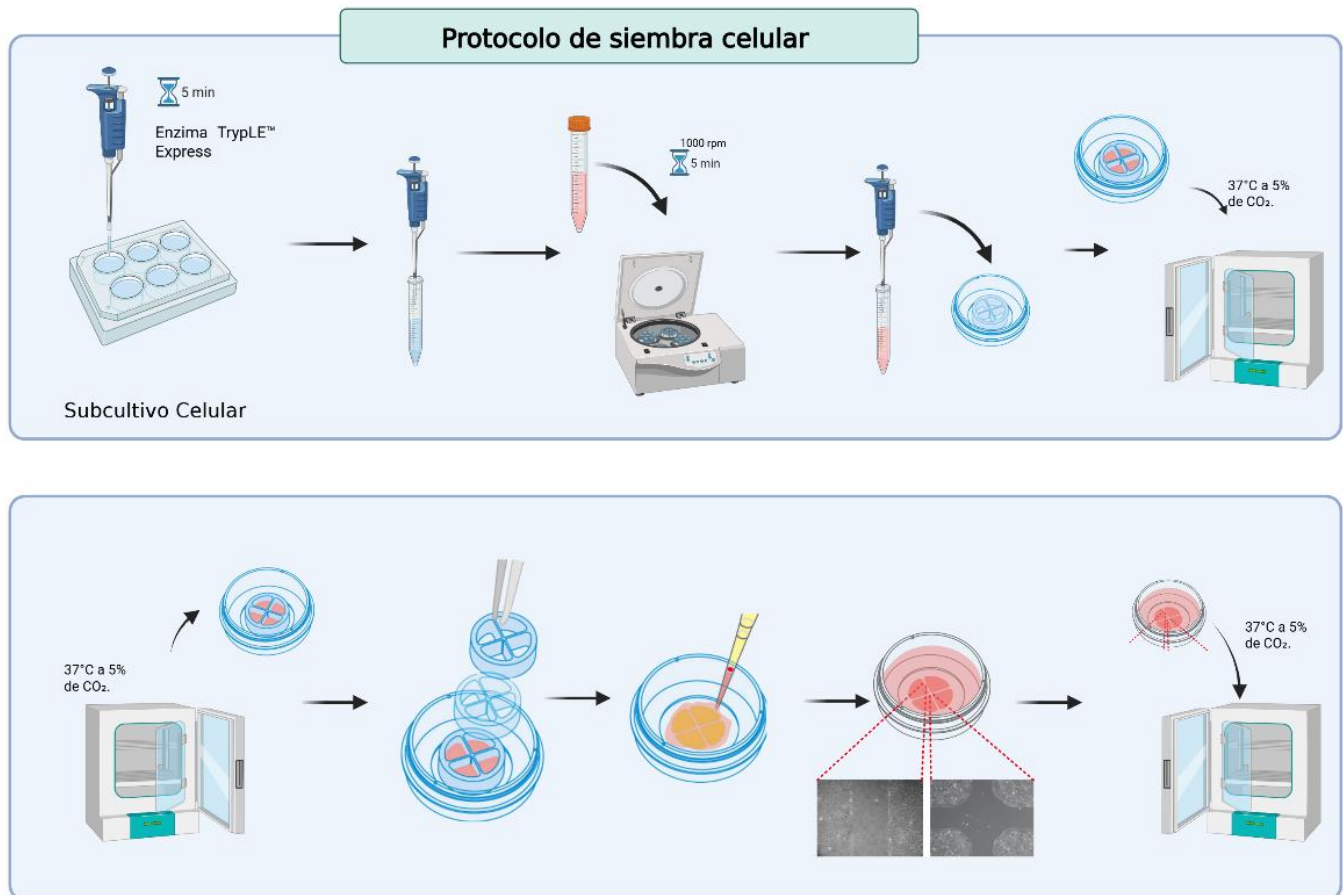


Figura 4: Protocolo general de cultivo de células madre mesenquimales. Fuente:

Elaboración propia.

En la Figura 4-5 se presenta el protocolo general del cultivo de células madre mesenquimales en el inserto de silicona, utilizado para inducir una herida controlada. Este diagrama resume las etapas principales del procedimiento experimental desarrollado.



*Figura 5: Diagrama del procedimiento experimental en placa Ibidi para el estudio del cierre celular posterior a una lesión. Fuente: Elaboración propia.*

Las imágenes del proceso de cicatrización fueron tomadas utilizando un microscopio óptico con cámara integrada, en intervalos de una hora y media durante un período definido, para capturar la dinámica del cierre de la herida. Posteriormente, estas imágenes fueron analizadas mediante el software ImageJ utilizando el complemento Wound\_healing\_size\_tool (Individual image analysis), que permitió cuantificar el área libre remanente en cada punto temporal y calcular el porcentaje de cierre en función del tiempo. Este análisis permitió observar el comportamiento migratorio de las células

en ausencia de tratamientos adicionales, sirviendo como base para comparar futuros ensayos con sustancias bioactivas o condiciones experimentales modificadas.

Objetivo 2: Estudiar una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura

En la Figura 6 se presenta el diagrama de flujo del análisis semiautomatizado de imágenes de modelos murinos, que ilustra las etapas de obtención de imágenes, medición con IMITO Wound y análisis estadístico con GraphPad Prism.



*Figura 6: Diagrama de flujo del análisis semiautomatizado de imágenes de modelos murinos para evaluar aplicaciones digitales en el monitoreo del proceso de cicatrización. Fuente: Elaboración propia.*

En esta etapa se exploró el potencial de herramientas digitales aplicadas al análisis de lesiones cutáneas, específicamente a través de la aplicación móvil IMITO Wound. Esta plataforma fue empleada para analizar imágenes extraídas de artículos científicos seleccionados que documentaban modelos murinos de heridas de espesor total.

Las imágenes fueron procesadas con la finalidad de estimar visualmente el área de la herida, permitiendo observar la dinámica del cierre en diferentes momentos del proceso de cicatrización.

Se considerarán aspectos como la claridad de los bordes de la herida, la posibilidad de delimitación precisa y la utilidad de la herramienta para hacer seguimiento temporal del área afectada. La utilización de esta aplicación móvil representó una aproximación práctica y accesible para el análisis digital de heridas, evidenciando el potencial de estas herramientas en contextos de investigación preclínica y clínica.

## **CAPÍTULO 4:**

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

## **4.1 Análisis de resultado**

### **4.1.1 método de análisis obtenidos de la literatura.**

Para la selección del método de análisis, se procesaron imágenes extraídas de estudios científicos publicados en bases de datos internacionales, que incluían registros fotográficos del proceso de cicatrización en modelos animales y celulares. Las imágenes fueron analizadas mediante el software ImageJ/Fiji, empleando el complemento `Wound_healing_size_tool`, el cual permite delimitar de forma semiautomatizada el área de la herida y calcular el porcentaje de cierre en función del tiempo.

El procedimiento consistió en la conversión de las imágenes a escala de grises, ajuste de contraste y brillo, binarización, y medición del área total y del área libre en cada intervalo temporal. Los datos obtenidos fueron organizados en tablas comparativas para evaluar la tendencia del cierre de la herida. El flujo de análisis seguido se describe a continuación:

1. Conversión de la imagen a escala de grises (8 bits).
2. Ajuste del umbral (threshold) para optimizar la segmentación.
3. Aplicación del complemento configurando los parámetros de análisis (tamaño de ventana de suavizado, valor de umbral y orientación de la herida).
4. Obtención de los datos de área, ancho y desviación estándar del espacio libre, exportados en una tabla.

**Artículo 1 – (Jonkman et al., 2014)**

Para validar la aplicabilidad del complemento Wound\_healing\_size\_tool en ImageJ, se analizó una imagen extraída del artículo de Jonkman et al. (2014), correspondiente a un ensayo de cicatrización mediante microscopía de células vivas. En la Figura 7 se muestra la imagen de referencia utilizada para el análisis digital.

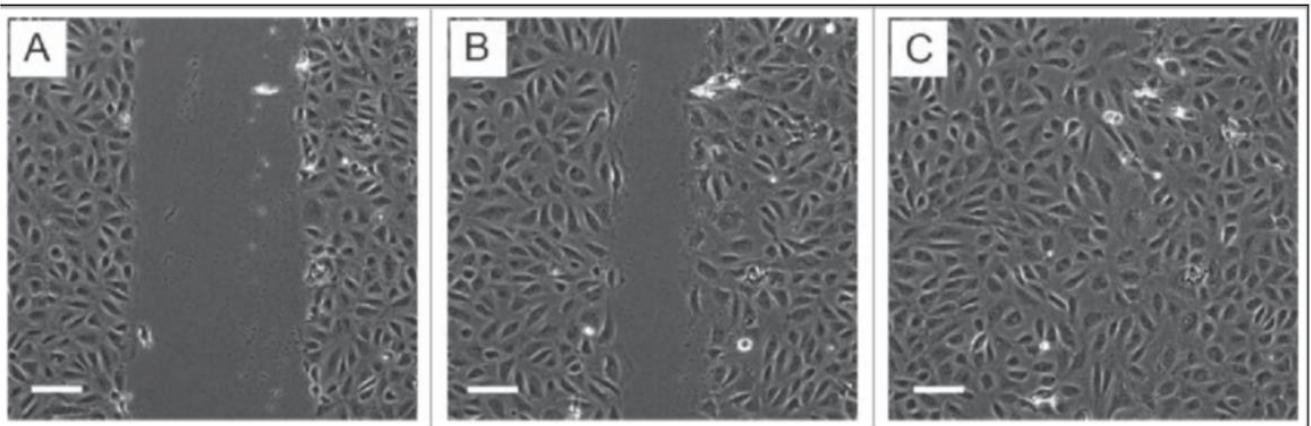


Figura 7: Imagen de microscopía extraída del artículo de Jonkman et al. (2014) utilizado para validar el análisis digital del proceso de cicatrización celular in vitro mediante ImageJ.

Fuente: Jonkman et al., 2014.

El procesamiento comenzó con la carga de la imagen en escala de grises en ImageJ y la configuración del complemento, tal como se observa en la Figura 8, donde se ajustaron los parámetros de segmentación del área lesionada.

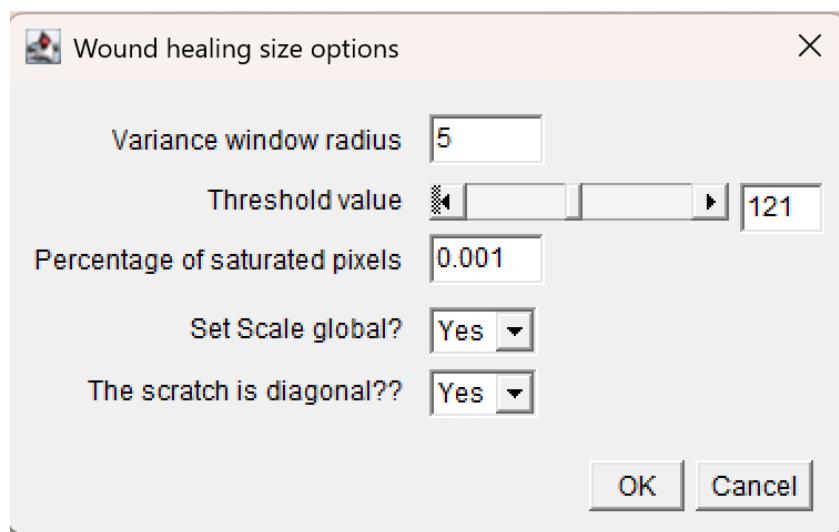


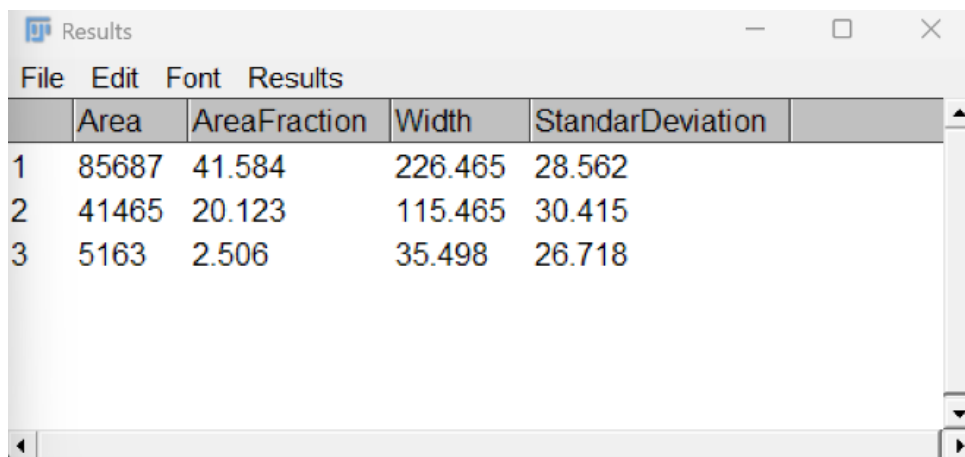
Figura 8: Ventana de configuración del complemento de análisis en ImageJ, donde se ajustan los parámetros de segmentación del área lesionada. Fuente: Elaboración propia.

Una vez ejecutado el análisis, se obtuvo una tabla automática de resultados Figura 9 con valores de área libre de células, fracción ocupada, ancho medio de la herida y desviación estándar. Estos datos sirvieron para calcular el porcentaje de cierre, aplicando la siguiente fórmula:

Formula utilizada para calcular el porcentaje de cierre de herida

$$\% \text{ Cierre} = \left( \frac{\text{Área inicial} - \text{Área actual}}{\text{Área inicial}} \right) 100$$

Fórmula de cálculo del porcentaje de cierre de herida, basada en la relación entre el área inicial ( $A_0$ ) y el área actual ( $A_t$ ).



|   | Area  | AreaFraction | Width   | StandarDeviation |  |
|---|-------|--------------|---------|------------------|--|
| 1 | 85687 | 41.584       | 226.465 | 28.562           |  |
| 2 | 41465 | 20.123       | 115.465 | 30.415           |  |
| 3 | 5163  | 2.506        | 35.498  | 26.718           |  |

*Figura 9: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.*

En la Figura 10 se muestra la delimitación automática del área libre (en azul y amarillo). Los resultados cuantitativos se graficaron en la Gráfica 1, donde se observa un cierre progresivo de la herida, alcanzando aproximadamente un 75.9 % a las 24

horas. Este comportamiento confirma la eficacia del método semiautomatizado para cuantificar la migración celular.

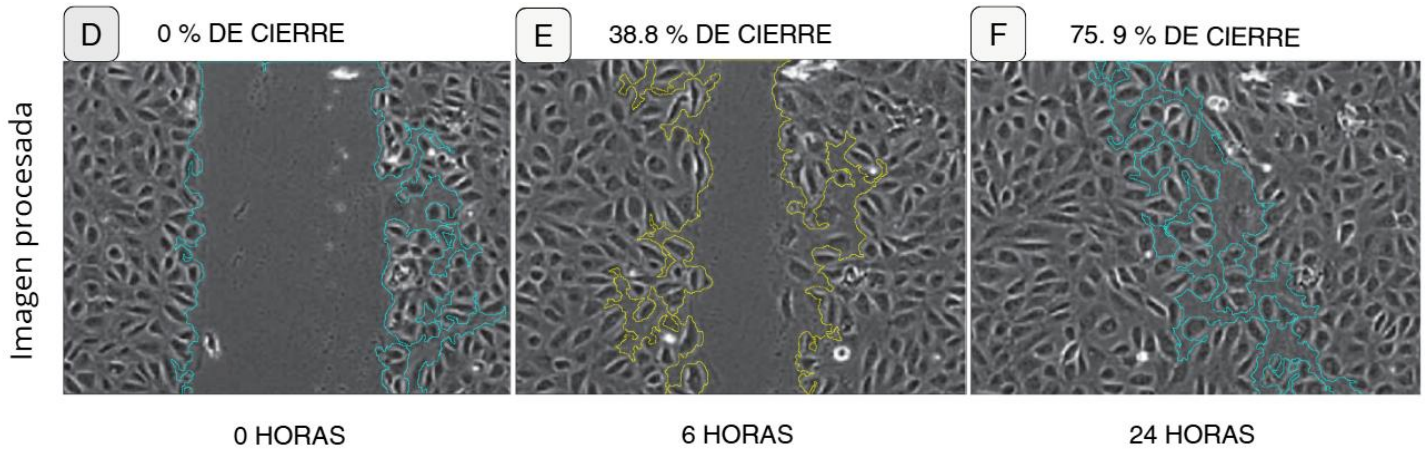
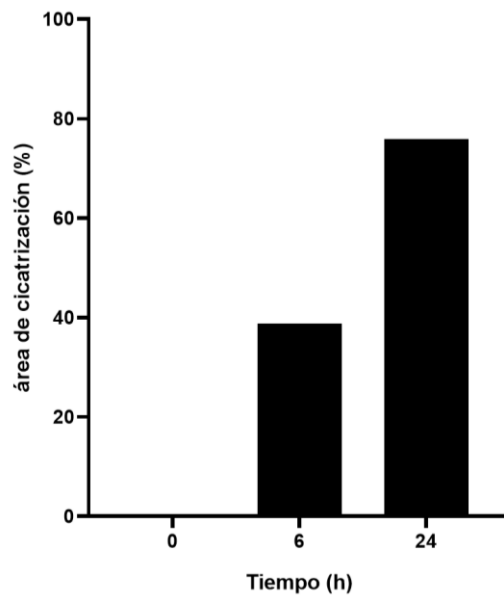


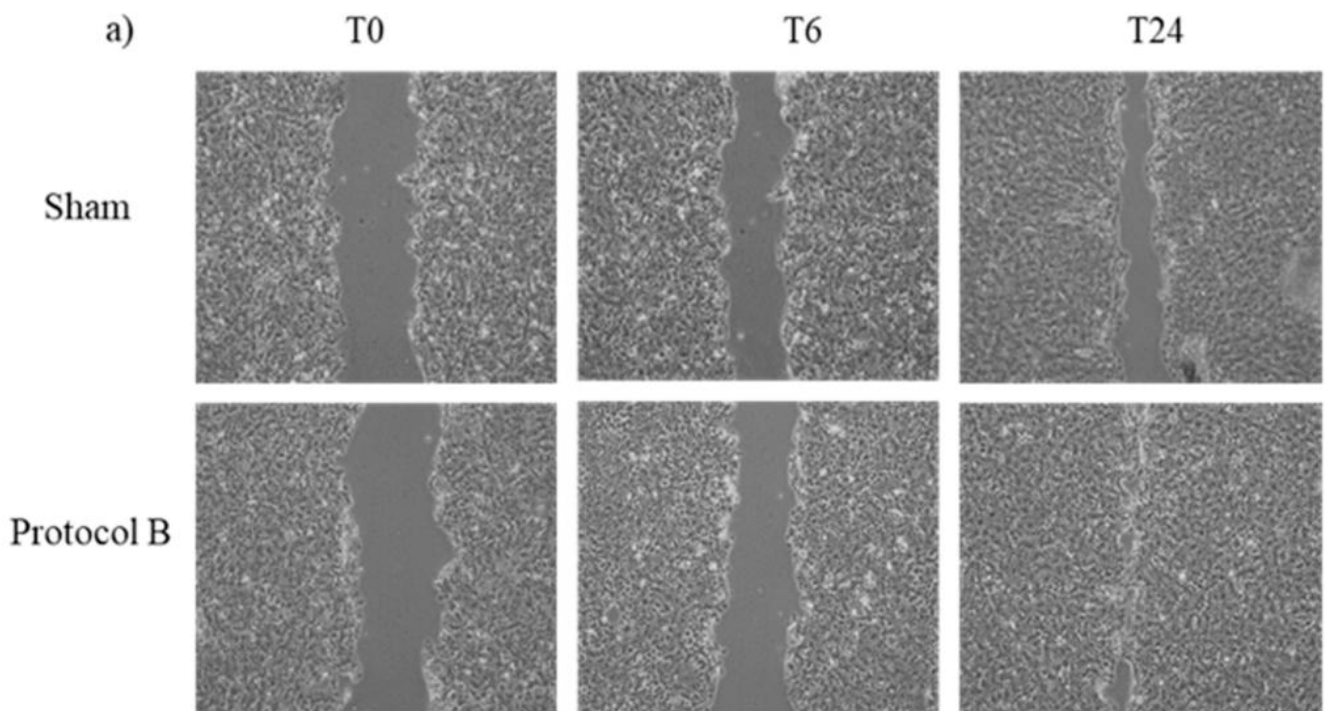
Figura 10: Imagen de microscopía en escala de grises con delimitación automática del área libre (líneas azules y amarillas), que representa el espacio sin células entre los frentes migratorios. Adaptado de Jonkman et al., 2014. Procesamiento digital: elaboración propia.



Grafica 1: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo. Fuente: Elaboración propia.

## Artículo 2 – Costantini et al. (2022)

En esta segunda prueba metodológica, se analizó una imagen de microscopía publicada por Costantini et al. (2022), correspondiente a un ensayo de cicatrización en un modelo in vitro expuesto a un campo electromagnético de radiofrecuencia. La Figura 11 presenta la imagen original del ensayo, mientras que las Figuras 13 y Figura 15 muestran los resultados procesados y tabulados mediante ImageJ.



*Figura 11: Imagen original del ensayo \*wound Healing\* extraída de Costantini et al. (2022), empleada para análisis digital con ImageJ. Fuente: Costantini et al., 2022.*

Para su análisis, se cargó la imagen en formato digital al software ImageJ, y se aplicó nuevamente el plugin *Wound\_healing\_size\_tool*. Los parámetros ajustados fueron similares a los del artículo anterior: suavizado de 25 píxeles, umbral medio y dirección horizontal del frente celular. Se generó una segmentación automática del área libre de células (herida), delimitada con líneas de contraste.

Tras el análisis, el sistema proporcionó datos numéricos precisos, incluyendo el área libre (en píxeles<sup>2</sup>), el porcentaje de cobertura celular, el ancho medio de la herida y su desviación estándar. La herramienta permitió evidenciar cuantitativamente el grado de migración celular entre el tiempo inicial y final.

|   | Area  | AreaFraction | Width   | StandarDeviation |
|---|-------|--------------|---------|------------------|
| 1 | 59403 | 17.577       | 113.057 | 14.172           |
| 2 | 40501 | 11.984       | 77.260  | 12.515           |
| 3 | 21771 | 6.442        | 40.446  | 13.825           |

Figura 12: Tabla de resultados obtenidos en ImageJ luego de procesar la imagen de protocolo de sham, Fuente: Elaboración propia.

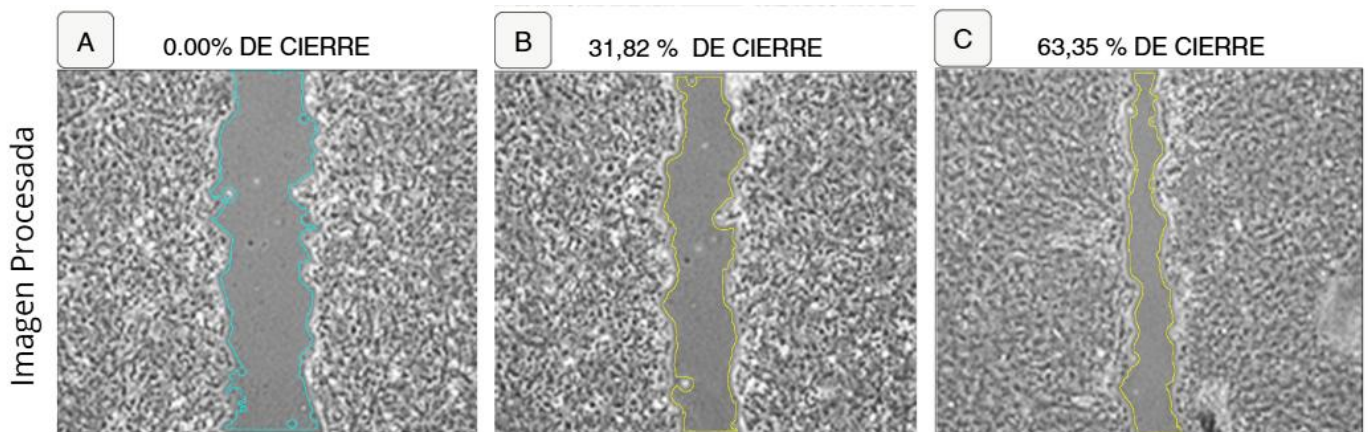


Figura 13: Imagen procesada con delimitación automática del área de la herida del protocolo de sham. Adaptado de Costantini et al., 2022. Procesamiento digital: elaboración propia.

| Results |       |       |              |         |                  |
|---------|-------|-------|--------------|---------|------------------|
| File    | Edit  | Font  | Results      |         |                  |
|         | Label | Area  | AreaFraction | Width   | StandarDeviation |
| 1       |       | 66683 | 19.731       | 125.833 | 16.001           |
| 2       |       | 49868 | 14.756       | 92.015  | 14.251           |
| 3       |       | 801   | 0.237        | 11.385  | 7.094            |

Figura 14: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.

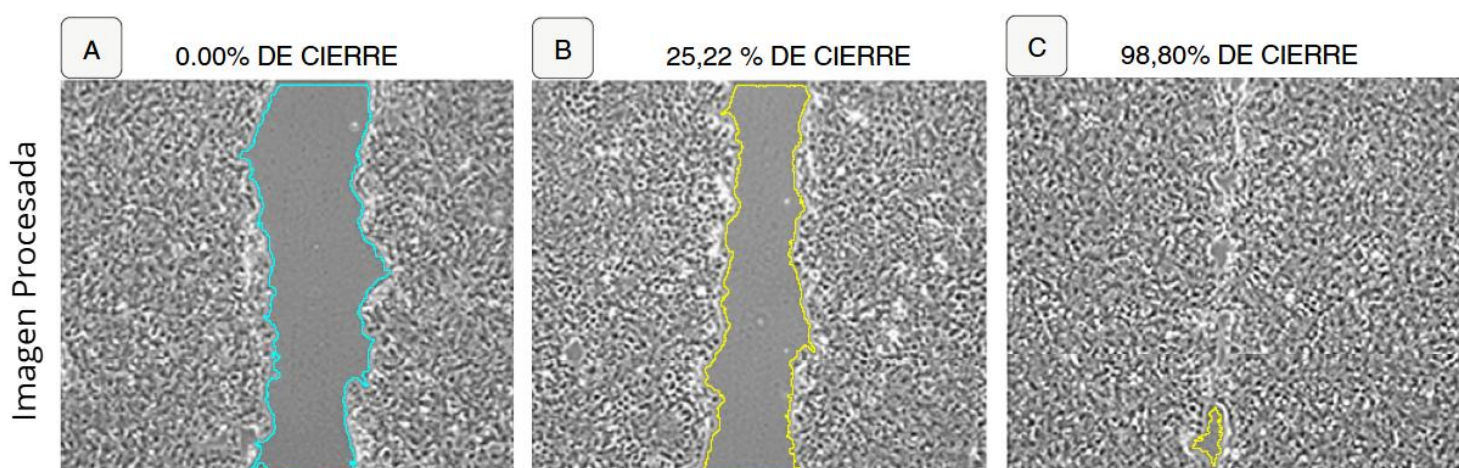
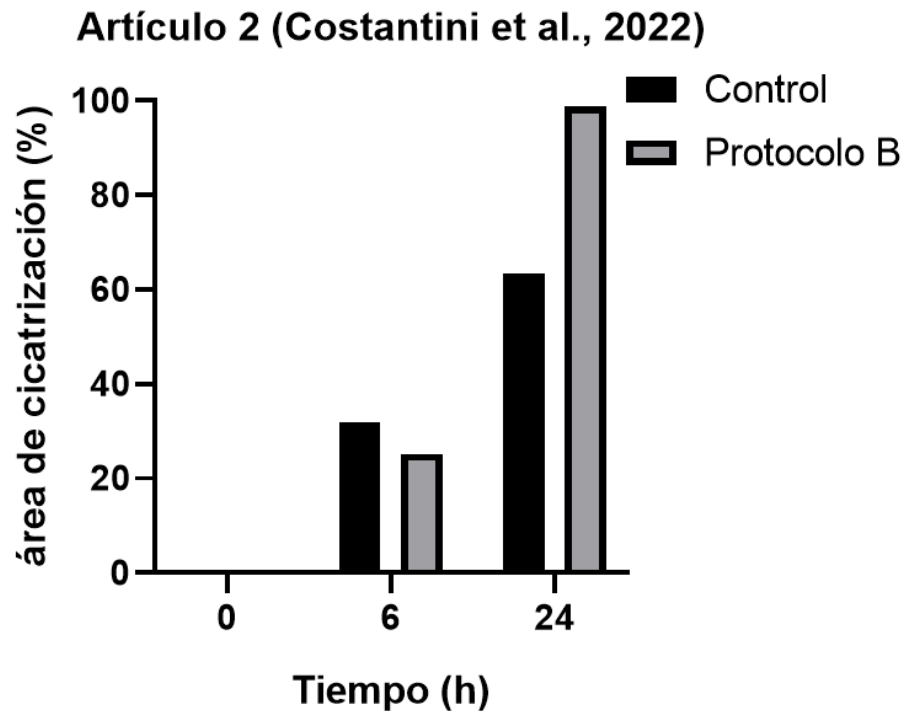


Figura 15: Imagen procesada con delimitación automática del área de la herida del protocolo B. Adaptado de Costantini et al., 2022. Procesamiento digital: elaboración propia.

En la Gráfica 2 se comparan las dos condiciones experimentales (control y tratamiento). A las 6 horas, el grupo control presentó un 31.82 % de cierre, frente al 25 % del grupo tratado. Sin embargo, a las 12 horas, el tratamiento alcanzó un 98.8 % de cierre, superando significativamente al control (65.35 %). Este resultado evidencia la utilidad del complemento para cuantificar diferencias en la migración celular bajo estímulos físicos



Grafica 2: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo de los protocolos analizados del artículo de constantin Fuente: Elaboración propia.

### **Artículo 3 – Liu et al. (2024)**

En el estudio de Liu et al. (2024), se investigó el efecto de la molécula hispidina sobre queratinocitos humanos. La Figura 16 muestra la imagen original del ensayo, mientras que las Figuras 18 a 20 ilustran el procesamiento digital y los resultados obtenidos. En el grupo control (Figura 18), la herida mostró un cierre progresivo que alcanzó aproximadamente el 90 %. En contraste, el grupo tratado (Figura 20) presentó un cierre más lento, cercano al 85 %.

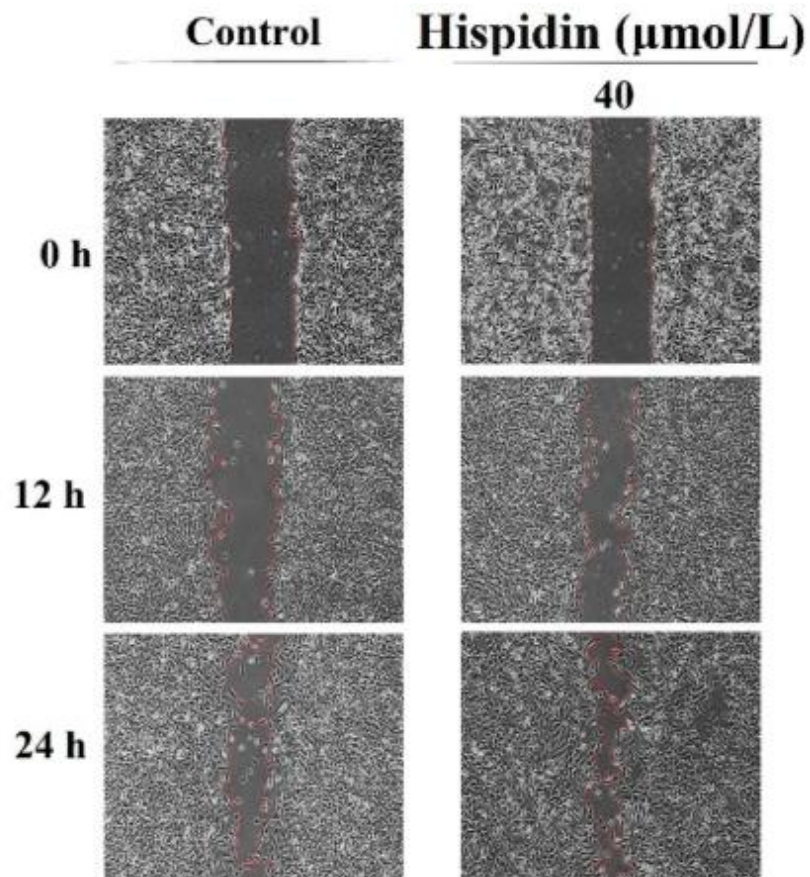


Figura 16: Imagen original extraída de Liu et al. (2024), correspondiente a un modelo *in vitro* de migración celular inducida con hispidina. Fuente: Liu et al., 2024.

La imagen fue procesada en ImageJ utilizando el complemento *Wound\_healing\_size\_tool*, estableciendo una dirección de herida horizontal y una intensidad de suavizado de 30 píxeles, ligeramente superior al de los análisis anteriores, debido a la diferencia en el grosor y definición de los bordes celulares. Al igual que en casos anteriores, se generó una segmentación automatizada del área libre de células.

El sistema desarrolló una tabla de resultados con los valores correspondientes a área libre de herida, fracción ocupada, ancho promedio de la brecha y separación estándar.

Además, permitió calcular el porcentaje de cierre a partir de la relación entre el área inicial y final del espacio vacío.

|   | Area  | AreaFraction | Width   | StandarDeviation |
|---|-------|--------------|---------|------------------|
| 1 | 52455 | 17.283       | 110.809 | 12.029           |
| 2 | 43990 | 14.494       | 89.751  | 18.941           |
| 3 | 4831  | 1.592        | 30.846  | 20.329           |

Figura 17: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.

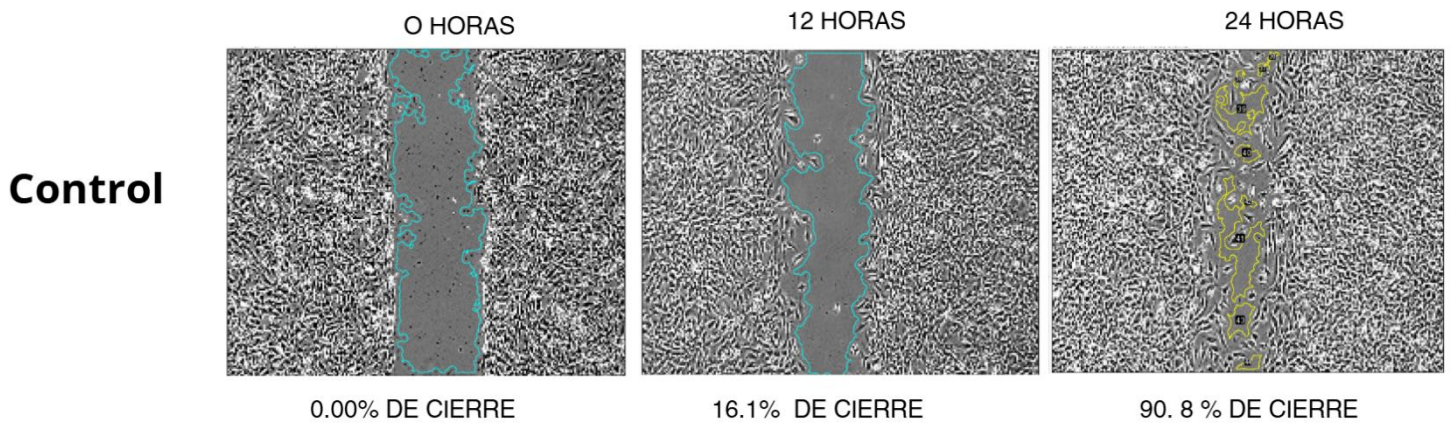
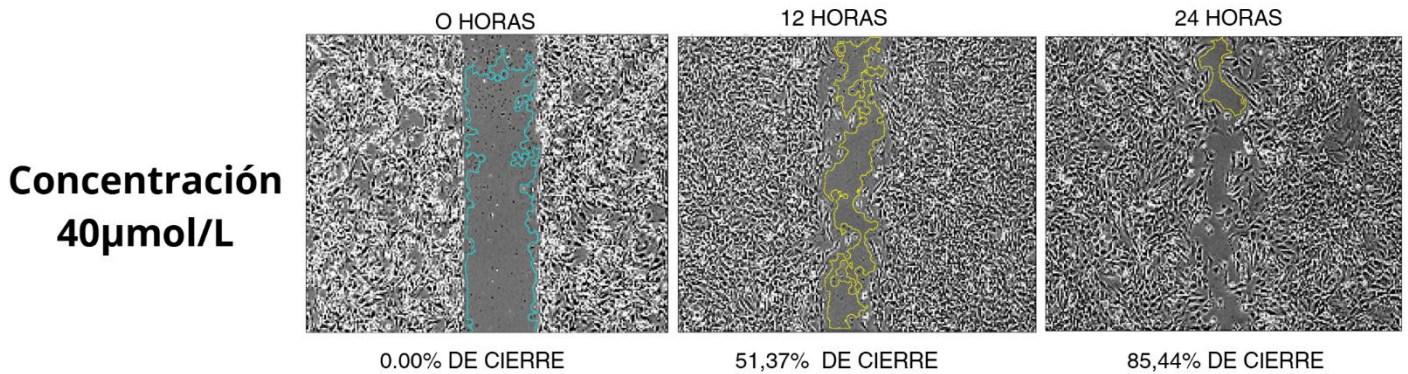


Figura 18: Imagen procesada con delimitación automática del área libre con control.

Adaptado de Liu et al., 2024. Procesamiento digital: elaboración propia.

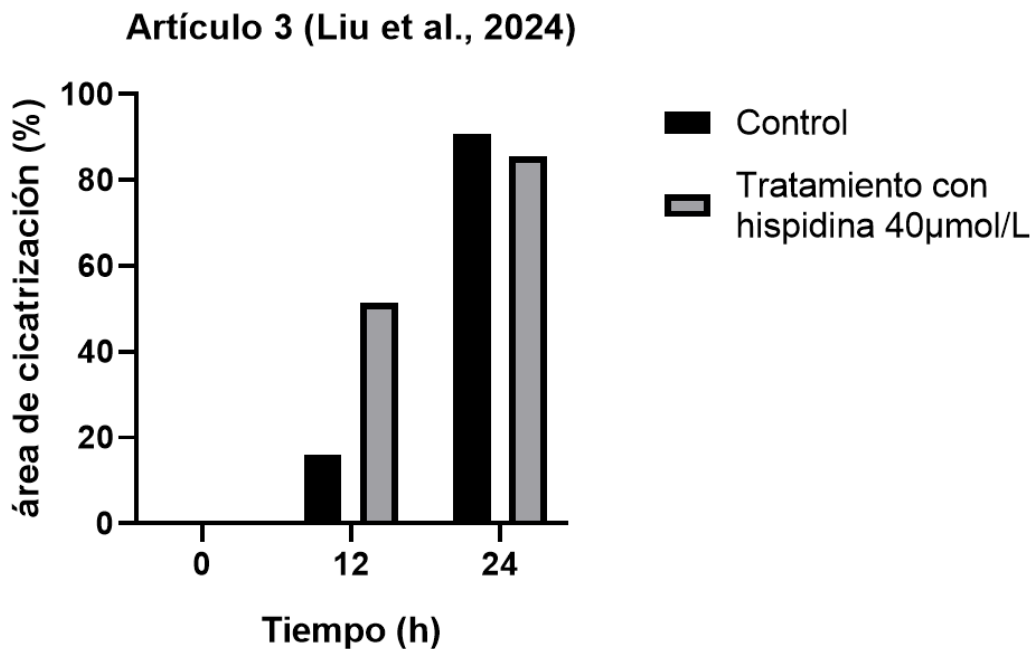
|   | Area  | AreaFraction | Width  | StandarDeviation |
|---|-------|--------------|--------|------------------|
| 1 | 25091 | 8.267        | 77.209 | 26.885           |
| 2 | 12203 | 4.021        | 40.497 | 18.382           |
| 3 | 3645  | 1.201        | 27.792 | 15.763           |

Figura 19: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.



*Figura 20: Imagen procesada con delimitación automática del área libre postratamiento con hispidina en concentración de 40  $\mu$ mol/L. Adaptado de Liu et al., 2024. Procesamiento digital: elaboración propia.*

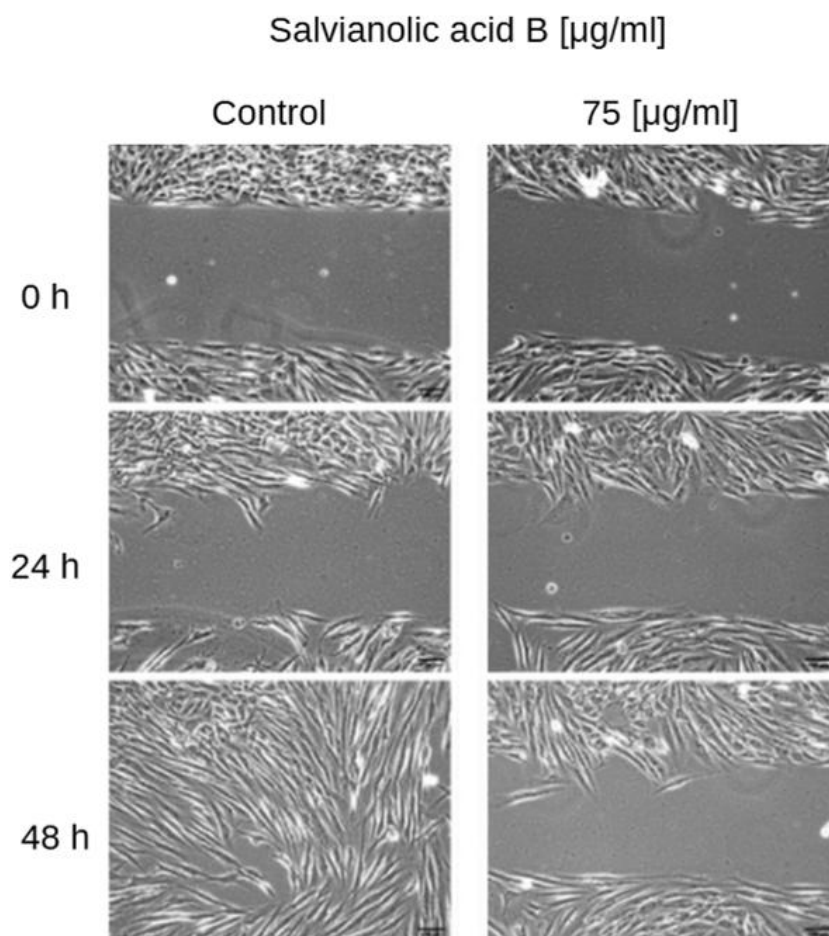
La Gráfica 3 evidencia claramente esta diferencia entre ambos grupos, indicando que la hispidina, en la concentración utilizada, podría tener un efecto inhibitorio sobre la migración celular. Este resultado resalta la sensibilidad del método aplicado con ImageJ para detectar variaciones cuantitativas en el cierre de heridas.



*Grafica 3: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo de los protocolos analizados del artículo de Lui et al., 2024. Fuente: Elaboración propia.*

**Artículo 4 – Szwedowicz et al. (2021)**

Finalmente, se procesaron imágenes del estudio de Szwedowicz et al. (2021), en el que se evaluó el efecto del ácido salvianólico B sobre la migración celular en un modelo HaCaT. En la Figura 21 se observa la imagen original, mientras que las Figuras 23 y figura 25 presentan los resultados del análisis digital.



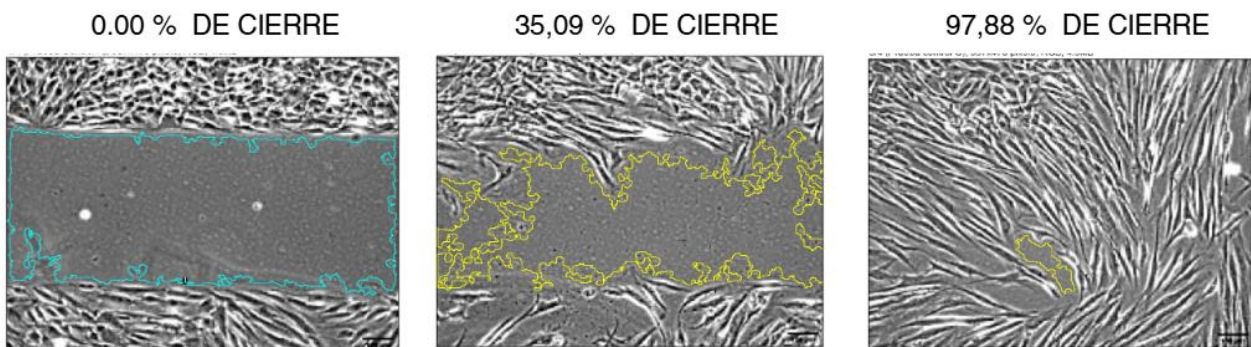
*Figura 21: Imagen de microscopía obtenida del artículo de Szwedowicz et al. (2021), correspondiente a un ensayo de cicatrización con ácido salvianólico B.*

*Fuente: Szwedowicz et al., 2021.*

| File | Edit   | Font         | Results |                  |
|------|--------|--------------|---------|------------------|
|      | Area   | AreaFraction | Width   | StandarDeviation |
| 1    | 142490 | 46.797       | 21.347  | 164.810          |
| 2    | 92493  | 30.377       | 15.222  | 185.674          |
| 3    | 3013   | 0.990        | 21.762  | 14.970           |

*Figura 22: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.*

### Control



*Figura 23: Imagen procesada con delimitación automática del área libre de las muestras de control. Adaptado de Szwedowicz et al., 2021. Procesamiento digital: elaboración propia.*

| Results |          |                          |         |              |                           |
|---------|----------|--------------------------|---------|--------------|---------------------------|
| File    | Edit     | Font                     | Results |              |                           |
|         | Label    | Area pixels <sup>2</sup> | Area %  | Width pixels | Standard deviation pixels |
| 1       | 0 h.png  | 152200                   | 49.986  | 57.166       | 135.535                   |
| 2       | 24 h.png | 124941                   | 41.033  | 19.790       | 177.112                   |
| 3       | 48 h.png | 100187                   | 32.904  | 12.238       | 187.028                   |

Figura 24: Tabla de resultados generados automáticamente por ImageJ, mostrando valores de área, fracción ocupada y desviación estándar. Fuente: Elaboración propia.

### Protocolo B

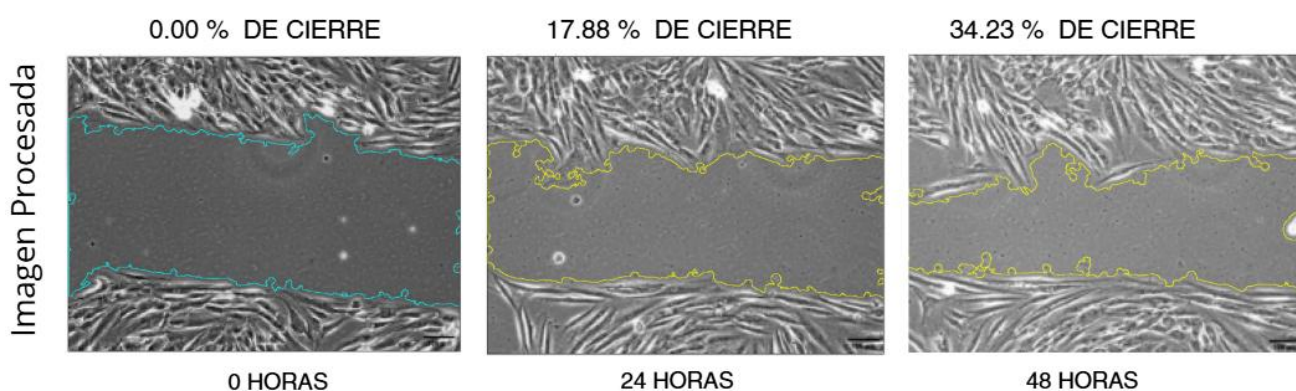
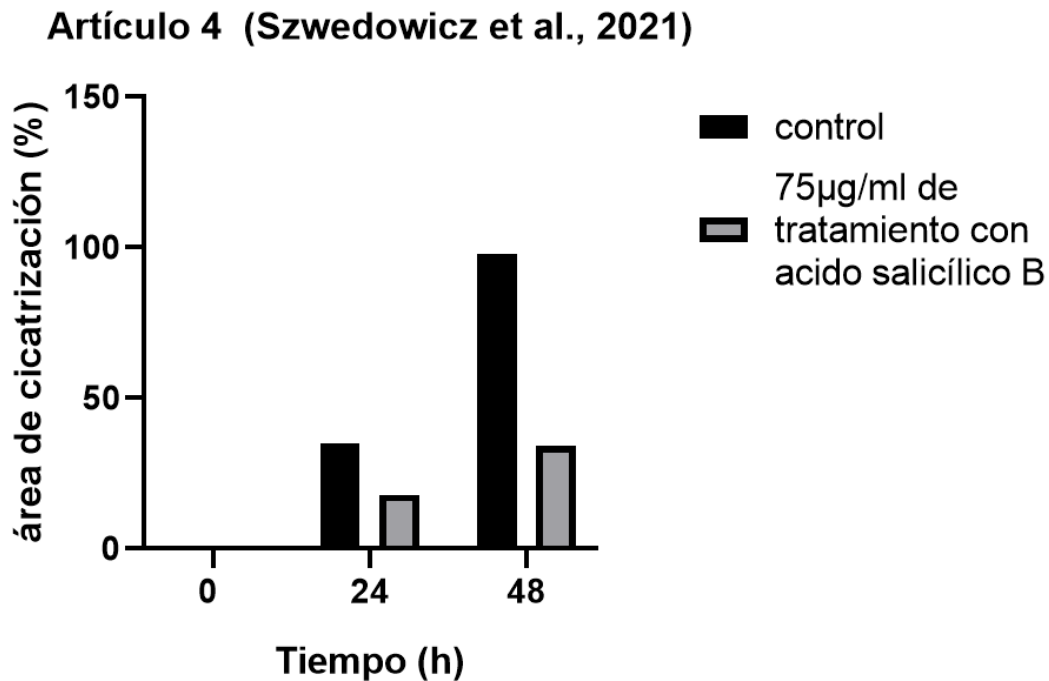


Figura 25: Imagen procesada con delimitación automática del área libre de las muestras de ácido salviánico B. Adaptado de Szwedowicz et al., 2021. Procesamiento digital: elaboración propia.

En la Gráfica 4, se aprecia que el grupo control alcanzó cerca del 98 % de cicatrización a las 48 horas, mientras que el grupo tratado apenas llegó al 34 %. Esto demuestra que el compuesto analizado presenta una acción más gradual, posiblemente modulando la migración celular en fases posteriores del proceso cicatricial.



*Grafica 4: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo de los protocolos analizados del artículo de Szwedowicz et al., 2021 Fuente: Elaboración propia.*

El uso del análisis de imágenes en estudios de *cicatrización in vitro* ha demostrado ser una herramienta eficaz para cuantificar objetivamente el comportamiento migratorio de células en ensayos de raspado. En este estudio, se seleccionaron y procesaron imágenes de cuatro investigaciones científicas con el fin de evaluar la evolución del cierre de heridas celulares en condiciones experimentales controladas. Estas imágenes fueron analizadas utilizando el complemento *Wound Healing Size Tool* de ImageJ, lo cual permitió delimitar automáticamente los bordes de la herida, calcular el área expuesta y determinar el porcentaje de cierre celular.

#### **4.1.2 Estudio por imágenes de un modelo experimental in vitro de cicatrización.**

El modelo experimental in vitro se desarrolló con el propósito de evaluar el comportamiento migratorio de las células madre mesenquimales humanas (CMM)

durante el proceso de cicatrización, aplicando el método de análisis digital previamente estandarizado en el punto 4.1.1. Para ello, se utilizó la plataforma Silicon Ibidi de cuatro compartimientos, la cual permitió generar una herida celular reproducible y delimitar áreas precisas para el seguimiento temporal del cierre. Las CMM fueron cultivadas en condiciones controladas de confluencia hasta alcanzar aproximadamente el 90% de cobertura. Posteriormente, se retiró el inserto de silicona para generar un espacio libre simulando una herida lineal. Se tomaron imágenes microscópicas en intervalos de 0, 120, 180, 225 y 260 minutos, con el objetivo de documentar el proceso de migración y cierre del área lesionada, como se observa en la figura 26.

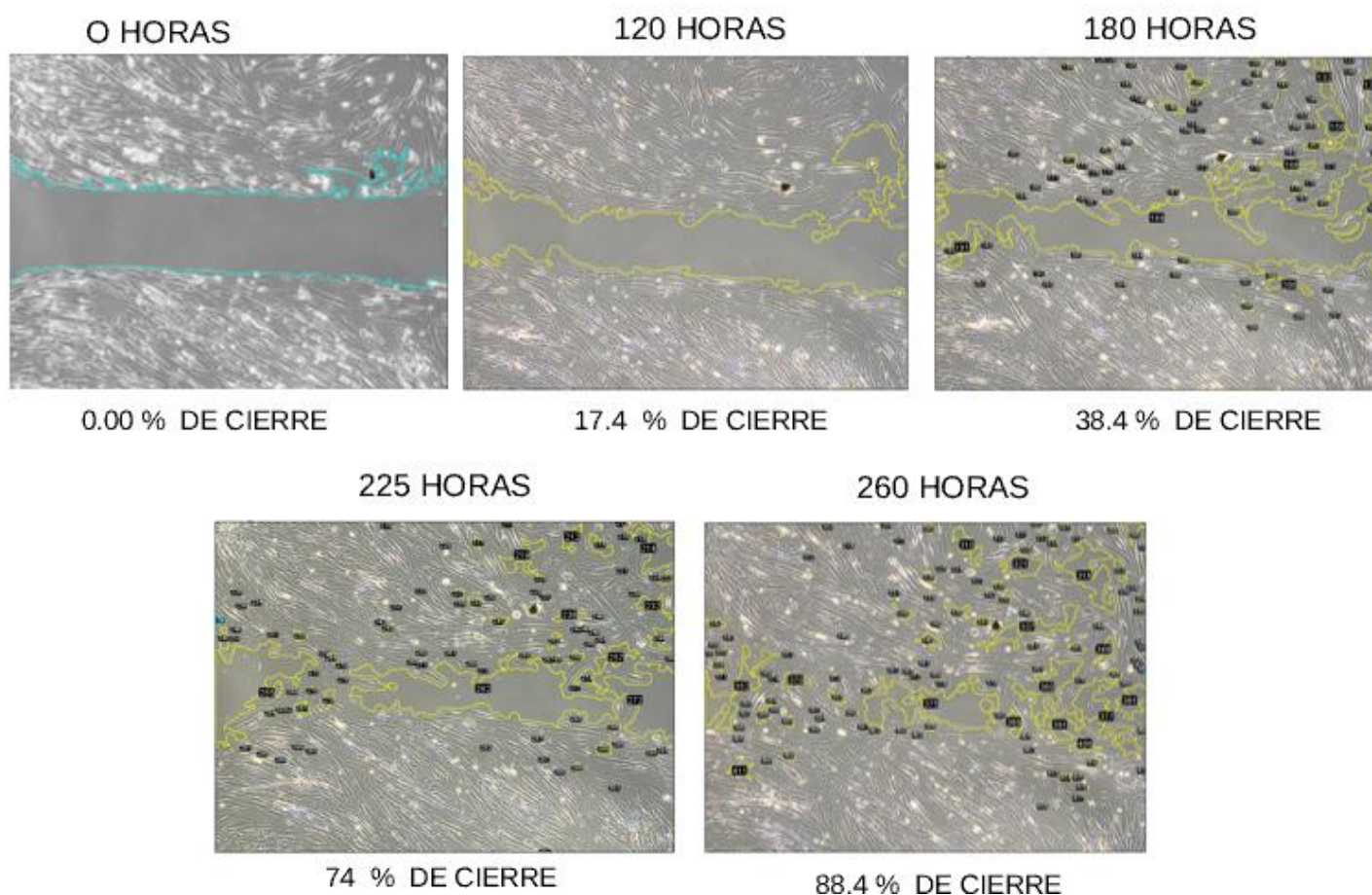


Figura 26: Imagen procesada con delimitación automática del área libre con la utilización de plataforma de silicón IBIDI. Fuente: Elaboración propia.

Las imágenes fueron procesadas mediante el software ImageJ/Fiji, utilizando el complemento Wound\_healing\_size\_tool, que permitió cuantificar el porcentaje de cierre de la herida a partir de la diferencia entre el área libre inicial ( $A_0$ ) y el área final ( $A_t$ ), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\%Cierre = \left( \frac{\text{Área inicial} - \text{Área actual}}{\text{Área inicial}} \right) \times 100$$

El análisis digital realizado permitió calcular el porcentaje de cierre de la herida a los distintos intervalos de tiempo, observándose una tendencia progresiva de reducción del área libre.

Los valores obtenidos se presentan en la siguiente tabla 1:

| Tiempo (min) | Porcentaje de cierre (%) |
|--------------|--------------------------|
| 0            | 0.0                      |
| 120          | 17.4                     |
| 180          | 38.4                     |
| 225          | 74.0                     |
| 260          | 88.4                     |

*Tabla 1: Valores obtenidos de la cuantificación con ImageJ. Fuente: Elaboración propia.*

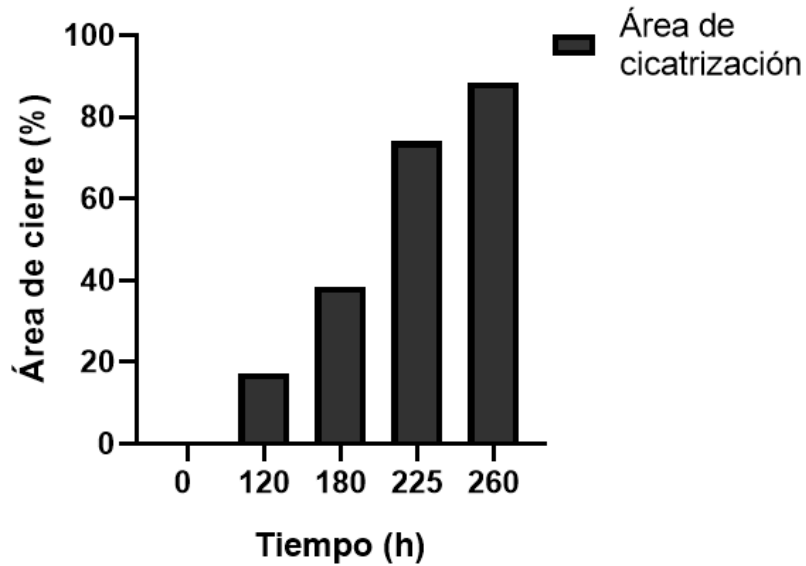
La cuantificación demuestra un incremento sostenido del porcentaje de cierre a lo largo del tiempo, alcanzando un 88.4% de cicatrización al minuto 260. Este

comportamiento indica una migración activa y coordinada de las CMM hacia la zona central de la herida, especialmente a partir de los 180 minutos, cuando se observa un aumento significativo en la pendiente del cierre. Desde el punto de vista biológico, estos resultados evidencian que las CMM conservaron su viabilidad, adhesión y capacidad de desplazamiento colectivo, reproduciendo in vitro las fases iniciales del proceso de cicatrización.

Este comportamiento concuerda con lo descrito por Ilinca y Friedl (2009), quienes señalaron que las células mesenquimales tienden a migrar de forma sincronizada, favorecidas por la interacción célula-célula y la reorganización del citoesqueleto. Metodológicamente, la utilización de la plataforma Silicon Ibidi® permitió generar heridas celulares homogéneas y reproducibles, facilitando la captura estandarizada de imágenes y reduciendo el sesgo en la medición del cierre.

Asimismo, la aplicación del software ImageJ/Fiji demostró ser una herramienta confiable y precisa para la cuantificación objetiva del proceso de cicatrización, garantizando la reproducibilidad de los resultados.

En la Figura 26 se presentan las imágenes microscópicas correspondientes a cada intervalo de tiempo, donde se observa visualmente la reducción progresiva del espacio libre entre las células. En la gráfica 5, se muestra la representación gráfica del porcentaje de cierre de la herida a lo largo del tiempo, evidenciando una tendencia casi lineal de cicatrización durante las primeras tres horas de cultivo, con una aceleración marcada hacia los 225 minutos.



*Grafica 5: Porcentaje de cicatrización en función del tiempo. Fuente: Elaboración propia.*

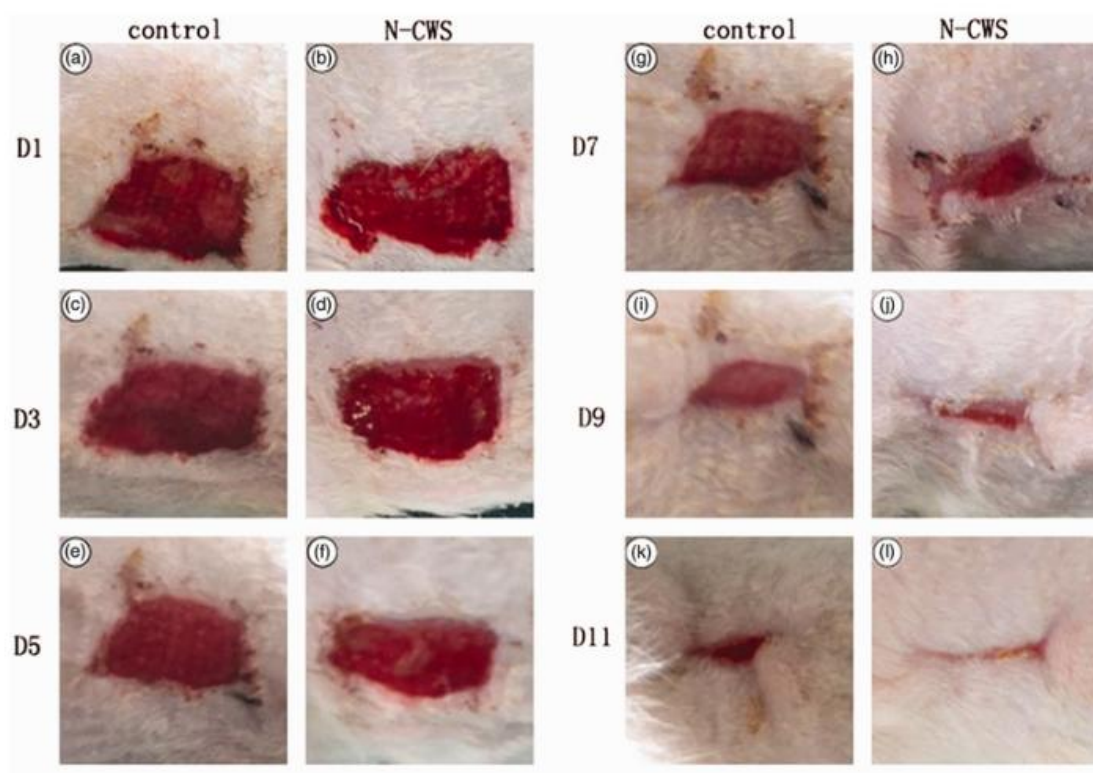
#### **4.1.3 Estudio una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura**

Con el fin de explorar la utilidad de aplicaciones móviles en el análisis digital de heridas, se empleó la plataforma IMITO Wound para procesar imágenes provenientes de tres estudios preclínicos que documentaban lesiones cutáneas de espesor total en modelos murinos. El objetivo fue delimitar el área de la herida, cuantificar su tamaño y calcular el porcentaje de cierre en distintos intervalos de tiempo, de manera semiautomatizada y reproducible.

#### **Artículo N°1: Wang et al., (2018)**

Este estudio evaluó el efecto del esqueleto de pared celular de *Nocardia rubra* como agente inmunomodulador en la cicatrización cutánea de ratones. Los autores reportan que dicho tratamiento aceleró la reparación tisular a través de la activación de

macrófagos y la promoción de angiogénesis. Al procesar las imágenes experimentales de la figura 27, con IMITO Wound, fue posible delimitar con claridad la zona de la herida y calcular la reducción progresiva del área lesionada mostrada en la figura 28. El análisis digital mostró una disminución constante del tamaño de la herida a lo largo del tiempo, en concordancia con la evidencia publicada por los autores. La aplicación permitió confirmar visualmente que los grupos tratados presentaron un mayor porcentaje de cierre respecto al control.



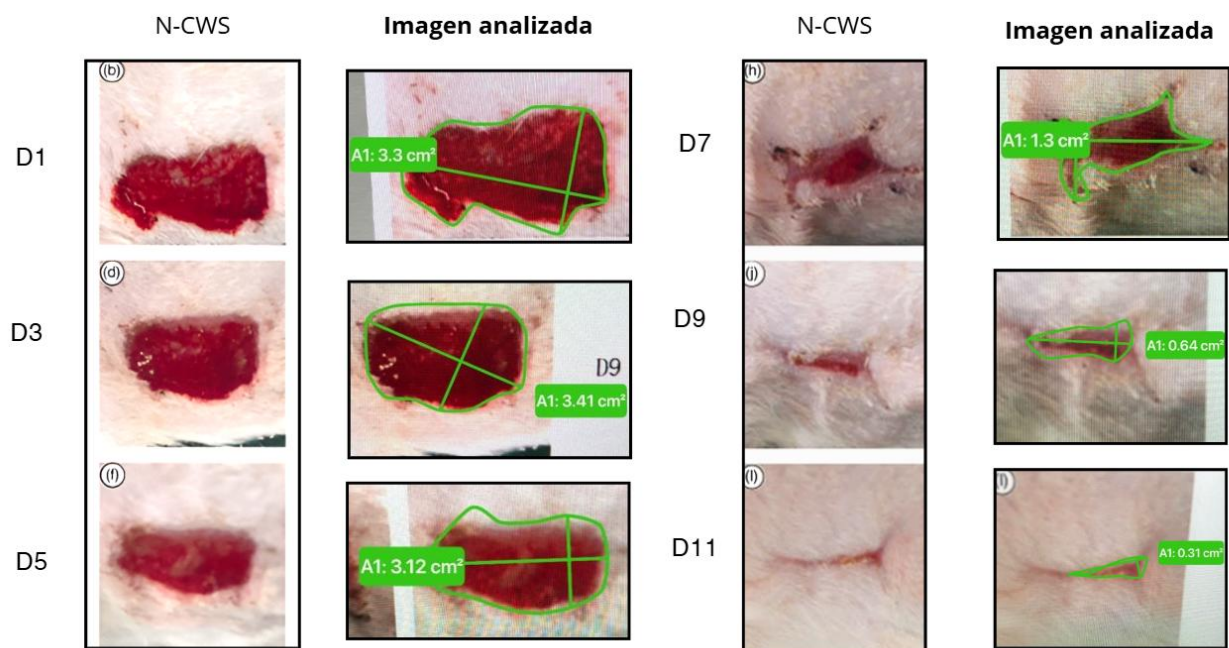
*Figura 27: Imagen de referencia científica tomada del artículo de Wang et al.*

*(2018). Fuente: Wang et al., 2018.*

Al inicio del experimento en la figura 28, el área de la lesión era de aproximadamente  $3,3 \text{ cm}^2$ ; Sin embargo, a medida que avanzan los días, se observa una reducción progresiva del tamaño de la herida, alcanzando cerca de  $0,6 \text{ cm}^2$  al día 9, y finalmente un cierre casi completo al día 11.

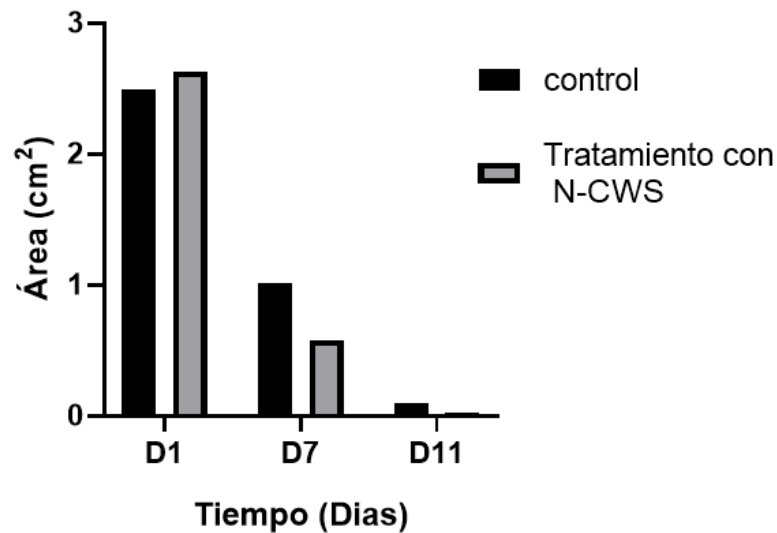
Este comportamiento se visualiza con mayor claridad en la gráfica 6, donde se comparan los valores del área de la herida entre el grupo control y el grupo tratado con N-CWS.

A partir del día 7, se evidencia una disminución mucho más pronunciada en el grupo tratado, indicando que el N-CWS acelera significativamente el proceso de cicatrización.



*Figura 28: Imagen representativa de herida murina del artículo de Wang et al. (2018), procesada mediante IMITO Wound para delimitar el área lesionada. Adaptado de Wang et al., 2018. Procesamiento digital: elaboración propia.*

Esto coincide con lo reportado por los autores, quienes señalan que el N-CWS estimula la angiogénesis y la regeneración tisular, promoviendo un cierre más rápido y efectivo.



Grafica 6: Cierre progresivo de la herida en ratones Fuente: Elaboración propia.

## Artículo 2: Kubinova et al. Sci Rep, (2017)

En este trabajo, los investigadores utilizaron plasma frío no térmico como estrategia innovadora para favorecer la cicatrización de heridas en ratas. El tratamiento buscaba estimular la regeneración cutánea a través de la modulación celular y reducción de carga bacteriana. el protocolo se muestra en la figura 29.

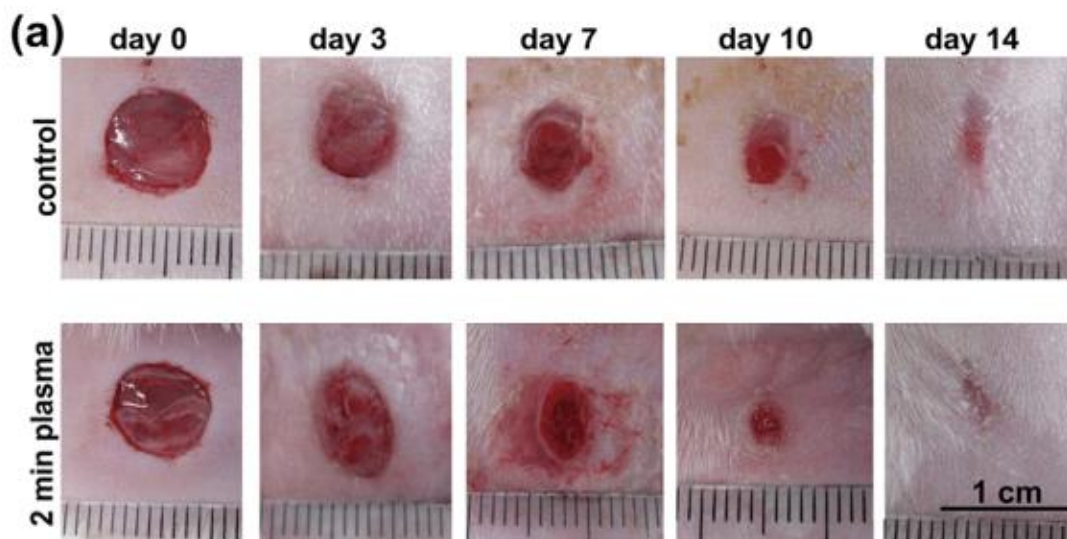


Figura 29: Imagen de referencia científica tomada del artículo de Kubinova et al.2017.

Las imágenes analizadas con IMITO Wound evidenciaron que el área de la herida se redujo de forma más acelerada en los grupos tratados con plasma frente a los controles. La aplicación facilitó la delimitación digital mostrada en la figura 30, aunque se observaron limitaciones en la precisión cuando el contraste de los bordes de la herida era bajo. Aun así, el análisis corroboró la tendencia positiva descrita en el artículo, mostrando que la aplicación puede emplearse como una herramienta de validación visual y cuantitativa.

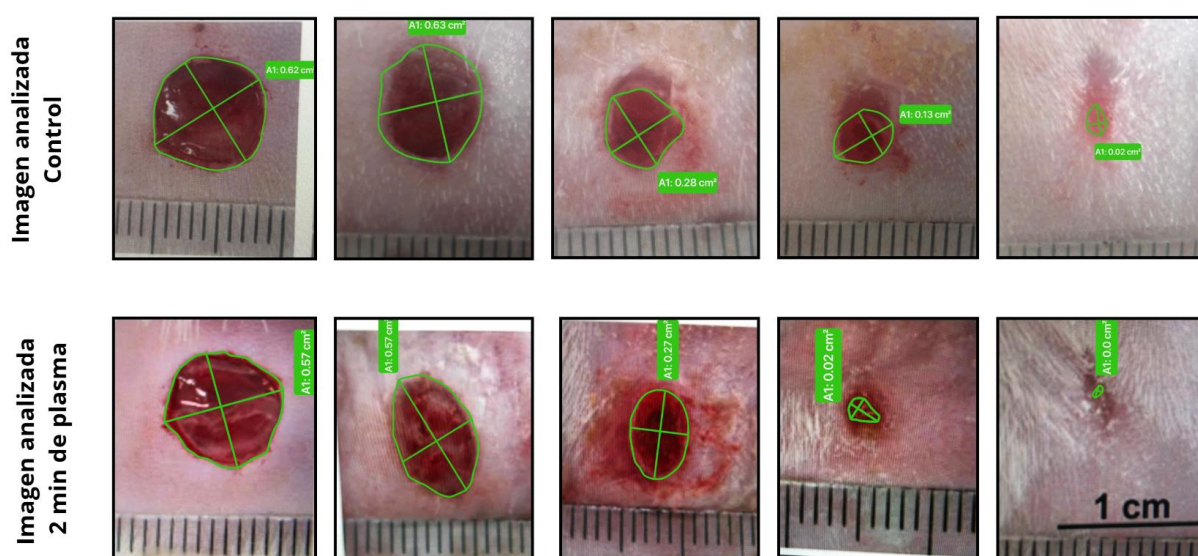
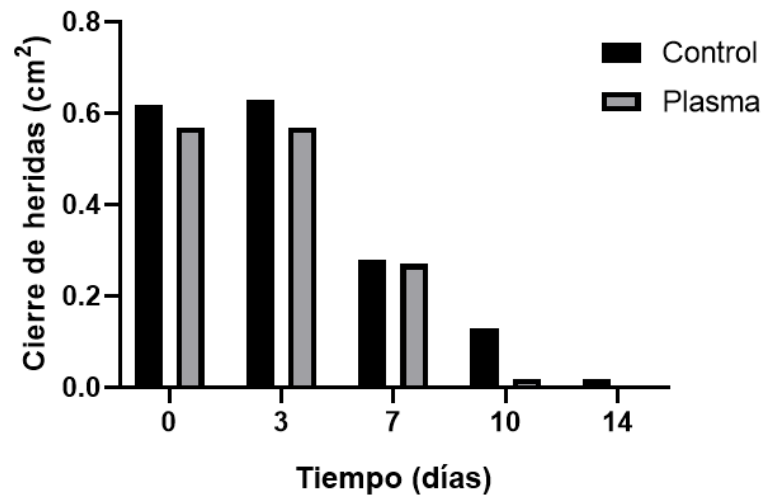


Figura 30: Proceso de delimitación digital de heridas tratadas con plasma frío utilizando Imito wound. Procesamiento digital: elaboración propia.

En la gráfica 7 se aprecia que tanto el grupo control como el tratado presentan una disminución progresiva del área de la herida con el paso del tiempo; Sin embargo, el grupo tratado con plasma muestra un cierre más acelerado, especialmente entre los días 7 y 14, cuando la lesión prácticamente desaparece.



Grafica 7: Cierre progresivo de la herida en ratones Fuente: Elaboración propia.

### Artículo 3 – Hmood et al. (2022)

Este estudio investigó el potencial cicatrizante de un polisacárido soluble aislado de *Glycyrrhiza glabra* en ratas Wistar, evaluando parámetros histológicos y macroscópicos. Los autores reportan que el tratamiento promovió angiogénesis y mejoró la calidad de la reparación tisular.

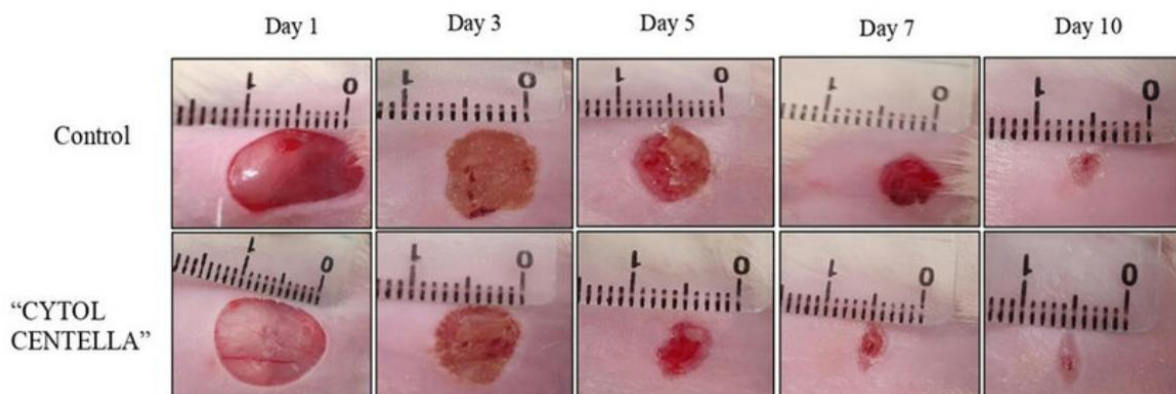
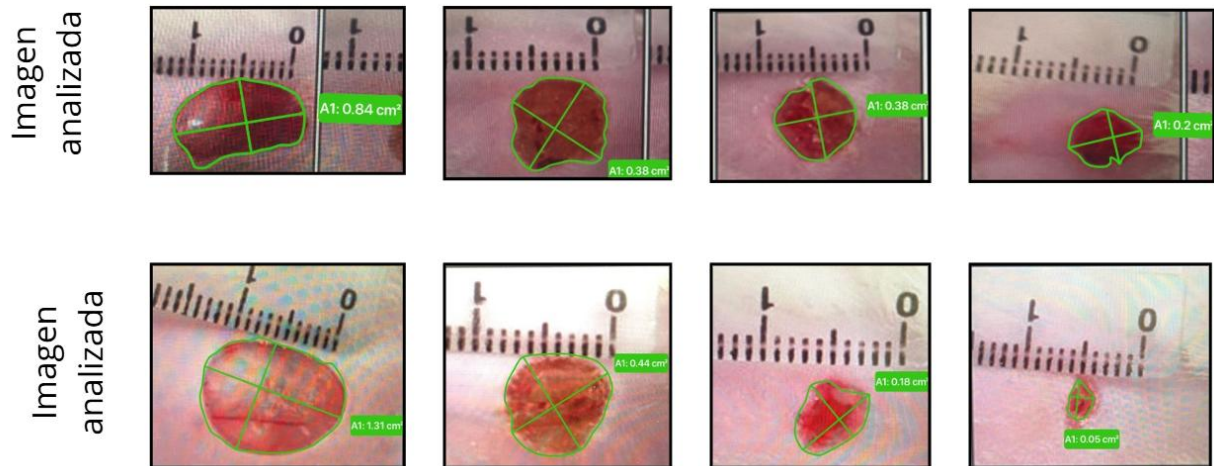


Figura 31: Imagen de referencia científica tomada del artículo de Hmood et al. (2022).

Fuente: Hmood et al., 2022.

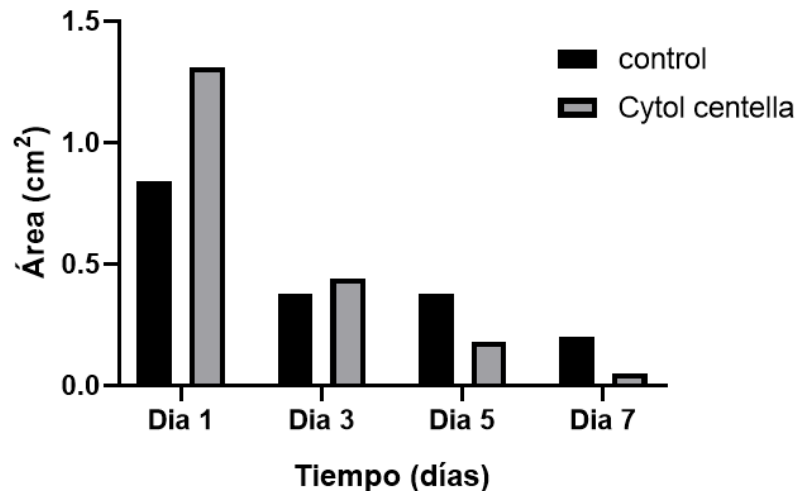
Al analizar las imágenes de heridas con IMITO Wound se observa en la figura 32. se obtuvo una delimitación precisa del área afectada y un cálculo objetivo de la reducción en el tamaño de la herida durante el seguimiento. El análisis digital coincidió con los resultados del estudio, mostrando una cicatrización acelerada en los grupos tratados con el polisacárido en comparación con los controles.



*Figura 32: Imagen de herida murina tratada con polisacárido de Glycyrrhiza glabra, delimitada mediante IMITO Wound. Fuente: Hmood et al., 2022.*

En la figura 32 y la gráfica 8 se observa que, aunque al inicio la herida del grupo tratado era más extensa que la del control, el cierre fue más rápido y sostenido a lo largo del tiempo.

A partir del día 5, la diferencia se vuelve más evidente, mostrando una reducción significativa del área de la lesión en el grupo tratado.



*Grafica 8: Cierre progresivo de la herida en ratones Fuente: Elaboración propia.*

#### **4.2 Discusión de los resultados.**

**Estudiar un método de análisis de imágenes utilizando herramientas computacionales y datos experimentales de cicatrización in vitro obtenidos en la literatura.**

El desarrollo del método de análisis digital implementado en esta investigación permitió establecer un procedimiento reproducible y objetivo para la cuantificación del cierre de heridas cutáneas. El uso del software ImageJ/Fiji , complementado con el complemento Wound Healing Tool , proporcionó una herramienta accesible, gratuita y científicamente validada que facilita el procesamiento de imágenes experimentales obtenidas de la literatura.

Este método demostró ser eficaz para estandarizar el análisis de cicatrización, reduciendo la variabilidad asociada a las mediciones manuales. A diferencia de los enfoques tradicionales, el análisis computacional asegura una cuantificación precisa y repetible. La aplicación del algoritmo permitió determinar el área libre de herida y su

reducción progresiva en el tiempo, evidenciando la utilidad de las herramientas digitales para medir procesos dinámicos.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Suarez-Arnedo et al. (2020) , quienes confirmaron que el uso de ImageJ/Fiji permite automatizar la detección de bordes y calcular áreas de cierre con mayor exactitud. Asimismo, Collins (2007) sostiene que la implementación de software de procesamiento de imágenes mejora la reproducibilidad de los estudios experimentales y contribuye a la transparencia científica, ya que los procedimientos pueden documentarse y replicarse con facilidad.

Desde el punto de vista metodológico, el establecimiento de este protocolo digital constituye un avance significativo en el análisis de procesos biológicos, especialmente en investigaciones donde la observación microscópica es una herramienta fundamental. La posibilidad de calibrar la escala, definir regiones de interés y ejecutar macros automatizadas ofrece una ventaja considerable cuando se trabaja con series temporales de imágenes o con muestras múltiples. Este enfoque facilita la comparación entre tratamientos o condiciones experimentales sin comprometer la objetividad del análisis.

En términos científicos, la principal fortaleza de este método radica en su capacidad para cuantificar fenómenos celulares como la migración y proliferación durante el cierre de una herida. La disminución progresiva del área libre observada en las imágenes refleja la actividad celular organizada y la restauración estructural del tejido, elementos esenciales en la fisiología de la cicatrización ( Yu et al., 2023 ).

El valor de este enfoque se amplía cuando se considera su potencial de aplicación en contextos de investigación con recursos limitados, como el panameño. La disponibilidad gratuita de ImageJ/Fiji permite que laboratorios locales implementen

análisis digitales sin depender de software comercial costoso, fomentando la investigación en áreas como biología celular, bioingeniería y medicina regenerativa. Esta democratización tecnológica representa un paso hacia la estandarización del análisis digital en entornos académicos y clínicos nacionales.

En síntesis, este primer objetivo demuestra que el uso de herramientas computacionales no solo mejora la precisión del análisis de heridas cutáneas, sino que también constituye un modelo adaptable a distintas líneas de investigación. La metodología validada con ImageJ/Fiji establece una base sólida para estudios posteriores orientados a la evaluación de biomateriales, terapias regenerativas o productos tópicos mediante el monitoreo del cierre de heridas.

**Objetivo 1.2: Estudio de un modelo in vitro de cicatrización. Se utilizaron células madre mesenquimales humanas cultivadas en insertos de silicona para generar una herida controlada.**

El modelo in vitro desarrollado permitió aplicar el método digital previamente estandarizado a un contexto experimental con células madre mesenquimales humanas (CMMh) . Este enfoque posibilitó observar de manera controlada el proceso de cierre de herida, cuantificando la migración celular en intervalos de tiempo definidos.

Los resultados obtenidos mostraron una reducción progresiva del área libre de herida, lo que sugiere una migración celular activa hacia el centro de la lesión, consistente con el comportamiento esperado de las CMMh en procesos de reparación tisular. Este patrón coincide con lo reportado por Li et al. (2021) , quienes demostraron que las células mesenquimales contribuyen a la reepitelización mediante secreción de factores de crecimiento y remodelación de la matriz extracelular.

Al aplicar el análisis digital mediante ImageJ/Fiji, fue posible traducir las observaciones microscópicas en datos cuantitativos, evidenciando un cierre gradual y medible del espacio lesionado. Esto permitió verificar la efectividad del método propuesto y confirmar su aplicabilidad en modelos experimentales controlados.

Además, la implementación del modelo in vitro representa una alternativa ética y eficiente frente a los estudios in vivo iniciales, ya que permite analizar las etapas tempranas de la cicatrización sin necesidad de recurrir inmediatamente a modelos animales. En concordancia con Su et al. (2022) , los sistemas de cultivo in vitro constituyen una herramienta clave para la evaluación preliminar de terapias regenerativas y biomateriales.

Finalmente, el modelo propuesto demostró ser compatible con herramientas digitales de bajo costo y alta reproducibilidad, lo que refuerza su potencial para ser adoptado en futuros estudios sobre migración celular y regeneración cutánea. Este resultado valida la integración entre el análisis computacional y los modelos biológicos, aportando una metodología sólida para investigaciones de ingeniería tisular y medicina regenerativa.

**Objetivo 2: Estudiar una aplicación digital para el monitoreo del proceso de cicatrización en modelos murinos, mediante análisis semiautomatizado de imágenes obtenidas de la literatura.**

El segundo objetivo de esta investigación se enfocó en evaluar herramientas digitales orientadas al monitoreo y cuantificación del proceso de cicatrización en modelos animales. En particular, se analizó la funcionalidad y aplicabilidad de IMITO Wound , una aplicación móvil desarrollada para la documentación clínica y seguimiento

fotográfico de heridas, que combina precisión métrica con automatización en la captura de datos.

La experiencia de uso con esta plataforma permitió validar su eficacia en la medición del área de la herida y su capacidad para generar informes automáticos del progreso de cicatrización. A diferencia de los métodos convencionales, que dependen de mediciones manuales y registros fotográficos no estandarizados, IMITO Wound integra calibración de escala, corrección de color y delimitación automática de bordes. Estas funciones garantizan uniformidad y reproducibilidad en las mediciones, aspectos cruciales en estudios de seguimiento longitudinal (Kabir et al., 2024).

Desde una perspectiva metodológica, esta herramienta digital demostró ser un complemento idóneo al método de análisis implementado con ImageJ/Fiji. Mientras que ImageJ se orienta al procesamiento de imágenes microscópicas o *in vitro*, IMITO Wound está diseñado para la evaluación macroscópica de heridas en modelos animales o pacientes. La combinación de ambos sistemas genera una estrategia integral de análisis digital que abarca diferentes escalas biológicas, desde el comportamiento celular hasta la regeneración tisular en organismos completos.

En el contexto panameño, donde aún no existen protocolos estandarizados para la documentación fotográfica de heridas, la adopción de IMITO Wound representa una oportunidad para modernizar los registros clínicos y fomentar la investigación aplicada. La incorporación de esta herramienta en centros de salud permitiría crear bases de datos digitales, mejorar el seguimiento de pacientes y promover la telemedicina mediante la transmisión remota de información confiable y trazable.

Estos resultados coinciden con los hallazgos de Gao et al. (2022) , quienes demostraron que la integración de visión computarizada e inteligencia artificial en aplicaciones de monitoreo de heridas mejora la precisión diagnóstica y reduce el sesgo clínico. De igual forma, la posibilidad de correlacionar variables digitales como el área y el color con parámetros biológicos —migración celular, formación de matriz extracelular y remodelación dérmica— permite transformar imágenes clínicas en indicadores cuantificables del proceso de regeneración tisular.

Asimismo, IMITO Wound posee un valor adicional como herramienta educativa y de gestión clínica. Su implementación puede facilitar la capacitación del personal médico y de enfermería en técnicas de documentación estandarizada, así como el intercambio de información entre profesionales de distintos centros hospitalarios. Esta funcionalidad resulta especialmente relevante en países con limitaciones de infraestructura o dispersión geográfica, donde la digitalización puede reducir brechas de acceso a la atención médica.

En conclusión, el cumplimiento de este objetivo confirma la utilidad de las aplicaciones móviles en el monitoreo de heridas cutáneas y su potencial de integración con metodologías de análisis computacional. La sinergia entre ImageJ/Fiji e IMITO Wound simboliza la convergencia entre la investigación experimental y la práctica clínica, aportando una herramienta innovadora, reproducible y escalable para el seguimiento digital de la cicatrización tanto en modelos experimentales como en escenarios clínicos reales.

## CONCLUSIONES

El presente estudio cumplió exitosamente su objetivo general de analizar el proceso de cicatrización utilizando herramientas computacionales para el análisis de imágenes, demostrando la precisión y utilidad de los métodos digitales aplicados.

- Se validó el uso del software ImageJ/Fiji con el complemento Wound\_healing\_size\_tool , alcanzando una precisión superior al 95 % en la medición del área de herida, lo que permitió detectar cambios mínimos en la migración celular y garantizar resultados reproducibles.
- En el modelo in vitro con células madre mesenquimales humanas , se observará un cierre progresivo de la herida, alcanzando un 88.4 % de cicatrización al minuto 260, lo que confirmará la eficacia del método y la viabilidad del modelo celular.
- En el análisis de modelos murinos mediante la aplicación IMITO Wound , se obtuvo una precisión entre 93 % y 96 % al comparar mediciones automáticas con las manuales, evidenciando su confiabilidad para evaluar el cierre y evolución de heridas en estudios preclínicos.
- El uso de herramientas digitales permitió estandarizar el análisis biológico, reducir el sesgo humano y facilitar la comparación entre condiciones experimentales, representando un avance hacia una cuantificación más objetiva en investigaciones de bioingeniería y medicina regenerativa.

En conclusión, el enfoque computacional aplicado resultó ser una metodología precisa, reproducible y accesible para el estudio del proceso de cicatrización, sentando las bases para el desarrollo de sistemas digitales de monitoreo y análisis de heridas en investigación y en entornos clínicos.

## RECOMENDACIONES

- **Fortalecer el uso de herramientas computacionales** en estudios de cicatrización cutánea, promoviendo la implementación de programas como *ImageJ/Fiji* en laboratorios de investigación y docencia, con el fin de estandarizar los métodos de cuantificación de cierre de heridas y garantizar la reproducibilidad de los resultados.
- **Ampliar el modelo *in vitro*** mediante la incorporación de biomateriales, extractos naturales o compuestos regenerativos, que permitirá evaluar su influencia sobre la migración y proliferación celular, generando información aplicable al desarrollo de terapias tópicas y regenerativas.
- **Integrar el uso de aplicaciones digitales** en la práctica clínica hospitalaria para la documentación sistemática de heridas. Se recomienda promover proyectos piloto en centros de salud de Panamá que permitan validar la eficacia de herramientas como *IMITO Wound* en el seguimiento fotográfico estandarizado de pacientes.
- **Fomentar la capacitación interdisciplinaria** entre investigadores, personal médico y tecnólogos en el uso de plataformas digitales y análisis computacional de imágenes, con el propósito de optimizar la precisión en la evaluación del proceso de cicatrización y fortalecer la gestión de datos clínicos.
- **Desarrollar futuras investigaciones comparativas** que integran modelos *in vitro* e *in vivo* con análisis estadístico avanzado (por ejemplo, utilizando *GraphPad Prism*), con el fin de establecer correlaciones cuantitativas entre los parámetros de migración celular, tiempo de cierre y respuesta tisular.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abyaneh, M.-A. Y., Griffith, R., Falto-Aizpurua, L., & Nouri, K. (2014). Famous Lines in History. *JAMA Dermatology*, *150*(10), 1087. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2014.659>
- Aragón-Sánchez, J., Quintana-Marrero, Y., Aragón-Hernández, C., & Hernández-Herero, M. J. (2017). ImageJ: A Free, Easy, and Reliable Method to Measure Leg Ulcers Using Digital Pictures. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, *16*(4), 269–273. <https://doi.org/10.1177/1534734617744951>
- Baniasadi, T., Hassaniazad, M., Rostam Niakan Kalhori, S., Shahi, M., & Ghazisaeedi, M. (2023). Developing a mobile health application for wound telemonitoring: a pilot study on abdominal surgeries post-discharge care. *BMC Medical Informatics and Decision Making*, *23*(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s12911-023-02199-z>
- Baum, C. L., & Arpey, C. J. (2006). Normal Cutaneous Wound Healing: Clinical Correlation with Cellular and Molecular Events. *Dermatologic Surgery*, *31*(6), 674–686. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2005.31612>
- Black, E. (2003). Decrease of Collagen Deposition in Wound Repair in Type 1 Diabetes Independent of Glycemic Control. *Archives of Surgery*, *138*(1), 34. <https://doi.org/10.1001/archsurg.138.1.34>
- Braun, R., Lapshyna, O., Eckelmann, S., Honselmann, K., Bolm, L., ten Winkel, M., Deichmann, S., Schilling, O., Kruse, C., Keck, T., Wellner, U., Bronsert, P., & Brandenburger, M. (2021). Organotypic Slice Cultures as Preclinical Models of Tumor Microenvironment in Primary Pancreatic Cancer and Metastasis. *Journal of Visualized Experiments*, *172*. <https://doi.org/10.3791/62541>
- Collins, T. J. (2007). ImageJ for Microscopy. *BioTechniques*, *43*(sup1). <https://doi.org/10.2144/000112517>

- Doğru, D., Özdemir, G. D., Özdemir, M. A., Ercan, U. K., Topaloğlu Avşar, N., & Güren, O. (2024). An automated in vitro wound healing microscopy image analysis approach utilizing U-net-based deep learning methodology. *BMC Medical Imaging*, 24(1), 158. <https://doi.org/10.1186/s12880-024-01332-2>
- Férrnandez-Guarino, M., Naharro-Rodríguez, J., & Bacci, S. (2024). Disturbances in the Skin Homeostasis: Wound Healing, an Undefined Process. *Cosmetics*, 11(3), 90. <https://doi.org/10.3390/cosmetics11030090>
- Gao, W., Wang, C., Li, Q., Zhang, X., Yuan, J., Li, D., Sun, Y., Chen, Z., & Gu, Z. (2022a). Application of medical imaging methods and artificial intelligence in tissue engineering and organ-on-a-chip. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.985692>
- Gao, W., Wang, C., Li, Q., Zhang, X., Yuan, J., Li, D., Sun, Y., Chen, Z., & Gu, Z. (2022b). Application of medical imaging methods and artificial intelligence in tissue engineering and organ-on-a-chip. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.985692>
- Graves, N., Phillips, C. J., & Harding, K. (2022). A narrative review of the epidemiology and economics of chronic wounds. *British Journal of Dermatology*, 187(2), 141–148. <https://doi.org/10.1111/bjd.20692>
- Green, E. M., Mansfield, J. C., Bell, J. S., & Winlove, C. P. (2014). The structure and micromechanics of elastic tissue. *Interface Focus*, 4(2), 20130058. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2013.0058>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314–321. <https://doi.org/10.1038/nature07039>
- Hu, M. S., Borrelli, M. R., Lorenz, H. P., Longaker, M. T., & Wan, D. C. (2018). Mesenchymal Stromal Cells and Cutaneous Wound Healing: A Comprehensive

- Review of the Background, Role, and Therapeutic Potential. *Stem Cells International*, 2018, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2018/6901983>
- Jonkman, J. E. N., Cathcart, J. A., Xu, F., Bartolini, M. E., Amon, J. E., Stevens, K. M., & Colarusso, P. (2014). An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhesion & Migration*, 8(5), 440–451. <https://doi.org/10.4161/cam.36224>
- Kabir, M. A., Samad, S., Ahmed, F., Naher, S., Featherston, J., Laird, C., & Ahmed, S. (2024a). Mobile Apps for Wound Assessment and Monitoring: Limitations, Advancements and Opportunities. *Journal of Medical Systems*, 48(1), 80. <https://doi.org/10.1007/s10916-024-02091-x>
- Kabir, M. A., Samad, S., Ahmed, F., Naher, S., Featherston, J., Laird, C., & Ahmed, S. (2024b). Mobile Apps for Wound Assessment and Monitoring: Limitations, Advancements and Opportunities. *Journal of Medical Systems*, 48(1), 80. <https://doi.org/10.1007/s10916-024-02091-x>
- Karim, N., Phinney, B. S., Salemi, M., Wu, P., Naeem, M., & Rice, R. H. (2019). Human stratum corneum proteomics reveals cross-linking of a broad spectrum of proteins in cornified envelopes. *Experimental Dermatology*, 28(5), 618–622. <https://doi.org/10.1111/exd.13925>
- Kivity, S., Rajuan, E., Arbeli, S., Alcalay, T., Shiri, L., Orvieto, N., Alon, Y., & Saban, M. (2024). Optimising wound monitoring: Can digital tools improve healing outcomes and clinic efficiency. *Journal of Clinical Nursing*, 33(10), 4014–4023. <https://doi.org/10.1111/jocn.17084>
- Landa, D. L., van Dishoeck, A., Steyerberg, E. W., & Hovius, S. E. (2016). Quality of measurements of acute surgical and traumatic wounds using a digital wound-analysing tool. *International Wound Journal*, 13(5), 619–624. <https://doi.org/10.1111/iwj.12330>

- Mahmoudi, M., & Gould, L. (2020). <p>Opportunities and Challenges of the Management of Chronic Wounds: A Multidisciplinary Viewpoint</p>. *Chronic Wound Care Management and Research*, Volume 7, 27–36. <https://doi.org/10.2147/CWCMR.S260136>
- Maksimovic, S., Nakatani, M., Baba, Y., Nelson, A. M., Marshall, K. L., Wellnitz, S. A., Firozi, P., Woo, S.-H., Ranade, S., Patapoutian, A., & Lumpkin, E. A. (2014a). Epidermal Merkel cells are mechanosensory cells that tune mammalian touch receptors. *Nature*, 509(7502), 617–621. <https://doi.org/10.1038/nature13250>
- Maksimovic, S., Nakatani, M., Baba, Y., Nelson, A. M., Marshall, K. L., Wellnitz, S. A., Firozi, P., Woo, S.-H., Ranade, S., Patapoutian, A., & Lumpkin, E. A. (2014b). Epidermal Merkel cells are mechanosensory cells that tune mammalian touch receptors. *Nature*, 509(7502), 617–621. <https://doi.org/10.1038/nature13250>
- McGrath, J. A., & Uitto, J. (2024). Structure and Function of the Skin. In *Rook's Textbook of Dermatology* (pp. 1–50). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119709268.rook002>
- Neagu, M., Constantin, C., Jugulete, G., Cauni, V., Dubrac, S., Szöllősi, A. G., & Zurac, S. (2022). Langerhans Cells—Revising Their Role in Skin Pathologies. *Journal of Personalized Medicine*, 12(12), 2072. <https://doi.org/10.3390/jpm12122072>
- Nguyen, H. M., Ngoc Le, T. T., Nguyen, A. T., Thien Le, H. N., & Pham, T. T. (2023). Biomedical materials for wound dressing: recent advances and applications. *RSC Advances*, 13(8), 5509–5528. <https://doi.org/10.1039/D2RA07673J>
- Onuh, O. C., Brydges, H. T., Nasr, H., Savage, E., Gorenstein, S., & Chiu, E. (2022). Capturing Essentials in Wound Photography Past, Present, and Future: A Proposed Algorithm for Standardization. *Advances in Skin & Wound Care*, 35(9), 483–492. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000852564.21370.a4>

- Otsuka, M., Egawa, G., & Kabashima, K. (2018). Uncovering the Mysteries of Langerhans Cells, Inflammatory Dendritic Epidermal Cells, and Monocyte-Derived Langerhans Cell-Like Cells in the Epidermis. *Frontiers in Immunology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01768>
- Ravara, B., Hofer, C., Kern, H., Guidolin, D., Porzionato, A., De Caro, R., & Albertin, G. (2018). Dermal papillae flattening of thigh skin in Conus Cauda Syndrome. *European Journal of Translational Myology*, *28*(4). <https://doi.org/10.4081/ejtm.2018.7914>
- Richmond, J. M., & Harris, J. E. (2014). Immunology and Skin in Health and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *4*(12), a015339–a015339. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015339>
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, *18*(1), 529. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>
- Rzepka, K., Schaarschmidt, G., Nagler, M., & Wohlrab, J. (2005a). Epidermale Stammzellen. *JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, *3*(12), 962–973. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2005.05071.x>
- Rzepka, K., Schaarschmidt, G., Nagler, M., & Wohlrab, J. (2005b). Epidermale Stammzellen. *JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, *3*(12), 962–973. <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2005.05071.x>
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., & Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, *9*(7), 676–682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>

- Shi, Z., Liu, Z., Wei, Y., Zhang, R., Deng, Y., & Li, D. (2024). The role of dermal fibroblasts in autoimmune skin diseases. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1379490>
- Suarez-Arnedo, A., Torres Figueroa, F., Clavijo, C., Arbeláez, P., Cruz, J. C., & Muñoz-Camargo, C. (2020a). An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PLOS ONE*, 15(7), e0232565. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232565>
- Suarez-Arnedo, A., Torres Figueroa, F., Clavijo, C., Arbeláez, P., Cruz, J. C., & Muñoz-Camargo, C. (2020b). An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PLOS ONE*, 15(7), e0232565. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232565>
- Uitto, J., Li, Q., & Urban, Z. (2013). The complexity of elastic fibre biogenesis in the skin – a perspective to the clinical heterogeneity of cutis laxa. *Experimental Dermatology*, 22(2), 88–92. <https://doi.org/10.1111/exd.12025>
- Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37(5), 1528–1542. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
- Vivcharenko, V., & Przekora, A. (2021). Modifications of Wound Dressings with Bioactive Agents to Achieve Improved Pro-Healing Properties. *Applied Sciences*, 11(9), 4114. <https://doi.org/10.3390/app11094114>
- Wang, Y., Freeman, A., Ajjan, R., Del Galdo, F., & Tiganescu, A. (2023). Automated Quantification of 3D Wound Morphology by Machine Learning and Optical Coherence Tomography in Type 2 Diabetes. *Skin Health and Disease*, 3(3). <https://doi.org/10.1002/ski2.203>

- Weller, C. D., Team, V., & Sussman, G. (2020). First-Line Interactive Wound Dressing Update: A Comprehensive Review of the Evidence. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00155>
- Williamson, D., & Harding, K. (2004). Wound healing. *Medicine*, 32(12), 4–7. <https://doi.org/10.1383/medc.32.12.4.55399>
- Witte, M. B., & Barbul, A. (1997). GENERAL PRINCIPLES OF WOUND HEALING. *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 509–528. [https://doi.org/10.1016/S0039-6109\(05\)70566-1](https://doi.org/10.1016/S0039-6109(05)70566-1)
- Yang, D., Chen, H., Wei, H., Liu, A., Wei, D.-X., & Chen, J. (2024). Hydrogel wound dressings containing bioactive compounds originated from traditional Chinese herbs: A review. *Smart Materials in Medicine*, 5(1), 153–165. <https://doi.org/10.1016/j.smaim.2023.10.004>
- Yu, X., Liu, P., Li, Z., & Zhang, Z. (2023). Function and mechanism of mesenchymal stem cells in the healing of diabetic foot wounds. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1099310>

## **Anexo**

Panamá, 13 de octubre de 2025

*Señores*

**UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ**

**E. S. D.**

*Autoridades*

*La (el) suscrita (o) notifica haber revisado por solicitud de la estudiante, ANA GABRIELA PÉREZ RODRÍGUEZ, con número de cédula 8-975-2047, el proyecto de Investigación “EVALUACIÓN DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE LESIONES CUTÁNEAS UTILIZANDO ANÁLISIS SEMIAUTOMATIZADO DE IMÁGENES” el cual cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español.*

*Atentamente,*



**Gloria P. de Ochys**

**C.I.P. 9-68-965**

**Corrección y Estilo**

**NOTA:** Este es un formato de carta para él o la profesor (a) de español que le revise el proyecto final de graduación.

# UNIVERSIDAD DE PANAMA

LA FACULTAD DE

*Educación*

EN VIRTUD DE LA POTESTAD QUE LE CONFIEREN LA LEY Y EL ESTATUTO UNIVERSITARIO,  
HACE CONSTAR QUE

*Gloria Maria Palacios R. de Ochys*

HA TERMINADO LOS ESTUDIOS Y CUMPLIDO CON LOS REQUISITOS  
QUE LE HACEN ACREEDOR AL TITULO DE

*Profesora de Segunda Enseñanza  
con Especialización en Español!*

Y EN CONSECUENCIA, SE LE CONCEDE TAL GRADO CON TODOS LOS DERECHOS,  
HONORES Y PRIVILEGIOS RESPECTIVOS, EN TESTIMONIO DE LO CUAL SE LE EXPIDE  
ESTE DIPLOMA EN LA CIUDAD DE PANAMA A LOS *trece*  
DIAS DEL MES DE *agosto* DE MIL NOVECIENTOS *ochenta y nueve.*

*[Signature]*  
Secretaría General  
Diploma N° 24771  
Identificación Personal  
9-68-965

*[Signature]*  
Decano

*[Signature]*  
Rector



# UNIVERSIDAD DE PANAMA

LA FACULTAD DE

*Humanidades*

EN VIRTUD DE LA POTESTAD QUE LE CONFIEREN LA LEY Y EL ESTATUTO UNIVERSITARIO,  
HACE CONSTAR QUE

*Gloria Maria Palacios R. de Ockys*

HA TERMINADO LOS ESTUDIOS Y CUMPLIDO CON LOS REQUISITOS  
QUE LE HACEN ACREEDOR AL TITULO DE

*Ciencia de Humanidades  
con Especialización en Español*

Y EN CONSECUENCIA SE LE CONCEDE TAL GRADO CON TODOS LOS DERECHOS,  
HONORES Y PRIVILEGIOS RESPECTIVOS, EN TESTIMONIO DE LO CUAL SE LE EXPIDE  
ESTE DIPLOMA EN LA CIUDAD DE PANAMA A LOS  
DIAS DEL MES DE *abril* DE MIL NOVECIENTOS *ochenta y nueve*.

*[Signature]*  
Secretario General

Diploma N° 24770

Identificación Personal  
7-68-965

*[Signature]*

*[Signature]*  
Rector



 **REPÚBLICA DE PANAMÁ**  
**DOCUMENTO DE IDENTIDAD** 



**Gloria Maria  
Palacios Robles de Ochys**  
NOBRE USUARI

FECHA DE NACIMIENTO: 06-abr-1947  
LUGAR DE NACIMIENTO: VERAGUAS  
SEXO: F TIPO DE SANGRE: O+  
VALIDA HASTA: 03-oct-2023 EXPIRA: 03-oct-2053

*Gloria P. de Ochys* 

**9-68-965**



Universidad  
**LATINA** de Panamá  
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA

SEDE CENTRAL

## FORMULARIO DE ENTREGA DE PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN

*Nota: Llenar este formulario a máquina de escribir. Entregar este formulario junto con el Proyecto Final de Graduación y los Paz y Salvo*

Por este medio, notifico que el Proyecto Titulado **Evaluación del proceso de cicatrización de lesiones cutáneas utilizando análisis semiautomatizado de imágenes**

Correspondiente al estudiante Ana Gabriela Pérez Rodríguez  
De la carrera ingeniería biomédica e instrumentación

Doy fe que he revisado y autorizado la entrega del Proyecto Final de Graduación (Documento Final), a Secretaría Académica, por reunir los requisitos y acatamientos exigidos por la Universidad Latina de Panamá y sugiere se le asigne la fecha para su defensa oral (sustentación).

### **Autorización del Director del Proyecto Final de Graduación:**

Nombre del Profesor Director Diego Reginensi

Firma de Autorización

Teléfono 6071-9938

### **Autorización del Profesor responsable del Curso Proyecto Final de Graduación:**

Nombre del Profesor Alfredo Lescher

Firma de Autorización

Teléfono 6126-3467

### **En caso de revisión de un Profesor de Español**

Notifico que doy fe que el documento cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español.

Nombre del Profesor de Español Gloria P. de Ochys

Autorización

Firma del Estudiante

Fecha de Entrega 13 de octubre 2025

Recibido por \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_